MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA
UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
NICOLAE TESTEMIȚANU

INVESTIGATII HEMATOLOGICE

(Recomandări metodice)

Chișinău
2008

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA
UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
NICOLAE TESTEMIȚANU

INVESTIGAȚII HEMATOLOGICE

(Recomandări metodice)

Chișinău
Centrul Editorial-Poligrafic *Medicina*
2008

Aprobat de Consiliul de experţi al MS RM, Consiliul metodic central USMF *Nicolae Testemiţanu*, proces-verbal nr.4 din 23.06.2006

Autori:

Vasile Niguleanu, prof.,dr.hab.med., Catedra Diagnostic de Laborator Clinic, USMF *Nicolae Testemiţanu*

Ion Corcimaru, prof.,dr.hab.med., membru corespondent AŞ RM, Catedra Hematologie, USMF *Nicolae Testemiţanu*

Valentin Gudumac, prof.,dr.hab.med., Catedra Diagnostic de Laborator Clinic, USMF *Nicolae Testemiţanu*

Victor Rîvneac, prof.,dr.hab.med., Laboratorul Morfologie, USMF *Nicolae Testemiţanu*

Radu Niguleanu, dr.med., asistent universitar, Catedra Morfopatologie, USMF *Nicolae Testemiţanu*

Liliana Rotaru, asistent universitar, Catedra Diagnostic de Laborator Clinic, USMF *Nicolae Testemiţanu*

Recenzenţi:

Victor Botnaru, dr.hab.med, prof.universitar, Catedra Medicină Internă nr.2

Minodora Mazur, dr.hab.med., prof.universitar, Catedra Medicină Internă nr.3.

Recomandările metodice cuprind descrierea minuţioasă a metodelor hematologice de bază practicate în majoritatea laboratoarelor clinice. Lucrarea conţine o serie de informaţii pe care le poate utiliza clinicianul confruntat zi de zi cu patologia hematologică.

Sunt predistinate medicilor-rezidenţi, specialiştilor-medici de laborator clinic, medicilor clinicieni de la cursurile de reciclare tematică, cadrelor didactice de la colegiile de specialitate în care se predau cunoştinţe în domeniul tehnicilor de laborator.

DESCRIEREA CIP A CAMEREI NAŢIONALE A CĂRŢII

Investigaţii hematologice: (Recomandări metodice) / aut.: Vasile Niguleanu, Ion Corcimaru, Valentin Gudumac [et al.]; Min. Sănătăţii al Rep. Moldova, Univ. de Stat de Medicină şi Farmacie „Nicolae Testemiţanu". – Ch.: CEP „Medicina", 2008. - 81p.

Bibliogr.: p. 81

Tiraj – 100 ex.

ISBN 978-9975-915-55-7

616.15-07(076.5)

I 59

Redactor: *Lidia Câssa*

Machetare computerizată: *Ala Livădar*

CUPRINS

Introducere 5

Capitolul I. GENERALITĂŢI PRIVIND METODELE UNIFICATE ALE EXAMENULUI SÂNGELUI PERIFERIC 6

1.1 Termeni şi definiţii 6

1.2 Particularităţile de vârstă ale indicilor hematologici 8

1.3 Factorii care pot influenţa rezultatele testelor hematologice 17

Capitolul II. TEHNICI DE LABORATOR PRIVIND EFECTUAREA ANALIZEI GENERALE A SÂNGELUI 23

2.1. Recomandări generale pentru colectarea, prepararea şi manevrarea probelor de sânge 23

2.2 Numărătoarea eritrocitelor 28

2.2.1. Numărătoarea eritrocitelor la analizoare hematologice automate computerizate 28

2.2.2. Numărătoarea eritrocitelor în camera de numărat 28

2.2.3. Numărătoarea reticulocitelor la colorarea cu albastru briliant de crezil, azur I sau azur II direct pe lamă sau în eprubetă 32

2.3. Numărătoarea trombocitelor 34

2.3.1. Numărătoarea trombocitelor prin metode directe în camere de numărat 34

2.3.2. Numărătoarea trombocitelor în frotiu 36

2.3.3. Numărătoarea leucocitelor în camera de numărat 37

2.4. Viteza de sedimentare a hematiilor (VSH) 38

2.5. Rezistenţa osmotică a eritrocitelor (rezistenţa globulară) 40

2.6. Analiza morfologică a elementelor figurate ale sângelui şi calculul diferenţiat al formulei leucocitare 42

2.7. Examenul microscopic 46

Capitolul III. STUDIUL MORFOLOGIC AL ELEMENTELOR FIGURATE ALE SÂNGELUI 48

3.1 Studiul seriei eritrocitare 48

3.1.1 Morfologia seriei eritrocitare normale – precursorii identificaţi morfologic 51

3.1.2 Modificările indicilor eritrocitari în stările patologice 53

3.1.2.1 Modificările numărului de eritrocite 54

3.1.2.2. Anomalii ale indicilor eritrocitari, care pot fi descrise pe frotiu... 55

3.2 Studiul seriei leucocitare 58
3.2.1 Morfologia celulelor granulocitopoiezei 59
3.2.2 Anomaliile celulelor seriei granulocitare 62
3.2.2.1.Modificările numărului de granulocite 62
3.2.2.2 Anomaliile morfologice ale granulocitelor 65
3.3. Studiul seriei limfocitare 67
3.3.1 Funcția limfocitelor 68
3.3.1.1 Anomalii ale limfocitelor 69
3.4 Seria monocitară 70
3.4.1 Morfologia celulelor monocitopoiezei 72
3.4.2 Anomaliile seriei monocitare 73
3.5 Seria trombocitară 73
3.5.1 Fiziologia celulelor seriei trombocitare 74
3.6 Valorile normale (intervale de referință) ale mielogramei 74
Bibliografie 81

Introducere

Etapele diagnosticului bolilor hematologice sunt identice cu cele din alte domenii ale medicinei: anamneză, examen obiectiv, investigaţii de laborator. Totuşi examenul bolnavilor cu boli hematologice prezintă unele particularităţi. Între afecţiunile sângelui şi organelor hematopoietice şi afecţiunile altor organe există un raport atât de strâns, încât în orice domeniu de patologie este implicată şi patologia hematopoietică. Prin urmare, multe afecţiuni nehematologice se manifestă şi cu semne de modificări hematologice. Din aceste considerente examenele hematologice au importanţă interdisciplinară.

Analiza generală a sângelui este examenul de rutină care poate fi efectuat în orice laborator şi care uneori poate fi suficient pentru diagnosticul unor afecţiuni.

Numărarea eritrocitelor, leucocitelor şi trombocitelor, alături de examenul frotiului de sânge periferic, aduce informaţii esenţiale privind rata efectivă a hematopoiezei, deficienţa unor compuşi esenţiali: fier, vitamină B_{12}, acid folic, anomalii congenitale sau dobândite, existenţa unor infecţii sau a unor reacţii alergice, invazia măduvii osoase cu celule maligne sau agenţi infecţioşi.

O etapă importantă în schema de investigaţii hematologice este examenul măduvii osoase, care apreciază celuritatea medulară, raportul dintre precursorii seriei mieloide şi eritroide, prezenţa elementelor maligne, a unor depozite celulare anormale în bolile metabolice.

Pe lângă metodele speciale de investigaţie, în lucrare sunt descrise metodele de rutină, care pot fi efectuate în orice laborator. Exprimăm speranţa că materialele incluse în această lucrare vor servi drept stimul pentru o nouă etapă de perfecţionare a asigurării cu investigaţii de laborator a instituţiilor medico-sanitare, contribuind la creşterea eficienţei asistenţei medicale acordate pacienţilor.

Capitolul I
GENERALITĂŢI PRIVIND METODELE UNIFICATE ALE EXAMENULUI SÂNGELUI PERIFERIC

1.1 Termeni şi definiţii

Termenii şi expresiile de mai jos se definesc după cum urmează:

a) *depistarea, identificarea* este proba calitativă;

b) *determinarea, dozarea* este proba cantitativă;

c) *materialul biologic pentru cercetare* este acel, în care se efectuează depistarea sau determinarea;

d) *eşantion* este cantitatea de materal biologic adus în laborator pentru cercetare;

e) *proba de cercetat* este proba de material biologic supusă prelucrării în procesul de depistare sau determinare;

f) *proba martor* este proba supusă aceleiaşi prelucrări ca şi proba de cercetat, dar care conţine:

1) aceiaşi reactivi, dar fără materialul biologic (sau fără soluţia etalon);
2) material biologic diluat în acelaşi mod ca şi proba de cercetat, dar fără reactivi;
3) aceiaşi reactivi plus materialul biologic inactivat;

g) *proba de control* este proba de material de control supusă aceleiaşi prelucrări ca şi proba de cercetat pentru depistarea erorilor posibile şi controlul calităţii lucrului efectuat;

h) *soluţia etalon, soluţia de calibrare* este soluţia care se foloseşte pentru construirea graficului de calibrare;

j) *proba etalon, proba de calibrare* este proba de soluţie etalon sau de calibrare supusă aceleiaşi prelucrări ca şi proba de cercetat;

i) *calcularea rezultatelor* se efectuează la determinare, dozare;

l) *aprecierea rezultatelor* se efectuează la depistare;

m) sângel*e periferic (*circulant) prezintă un lichid compus din plasmă şi celule sanguine: eritrocite (globulele roşii, RBC – Red Blood Cells; leucocite (globulele albe, WBC – White Blood Cells); şi trombocite (plachete sanguine, Platelets, Plts). La persoanele sănătoase în sângele periferic sunt prezente doar celule sanguine mature, celulele imature se găsesc în ţesutul hematopoietic. În practica curentă examenul sângelui periferic cel mai des solicitat în laboratorul clinic poartă titlul de *hemogramă* sau *analiza generală a sângelui*, care poate fi completă sau incompletă (parţială);

n) *hemograma completă* cuprinde numărătoarea celulelor sanguine (eritrocite, leucocite, formula leucocitară, trombocite şi reticulocite), descrierea morfologiei celulelor sanguine, dozarea hemoglobinei, determinarea hematocritului (Ht), valorii globulare şi VSH. O astfel de examinare a primit în republica noastră denumirea de *„analiză clinică generală a sângelui"* sau simplu *„analiză generală a sângelui"*;

o) *hemograma incompletă* cuprinde un număr mai redus de parametri.

În clinică adesea este nevoie de studiat numai unii parametri ai sângelui periferic în fincţie de necesităţile pentru diagnostic. Astfel se pot executa următoarele examene:

– *eritrograma* (numărătoarea eritrocitelor, reticulocitelor, determinarea hemoglobinei, valorii globulare şi anomaliile morfologice ale eritrocitelor);

– *leucograma (* numărătoarea leucocitelor şi formulei leucocitare, elementele albe imature şi anomalii morfologice);

– *trombocitograma* (numărătoarea trombocitelor şi observarea modificărilor lor morfologice).

Adesea, în condiţii de ambulator se exercită analiza incompletă a sângelui periferic, aşa-numită „triada" – numărul de leucocite, nivelul de hemoglobină şi VSH;

p) *hemoleucograma* reuneşte informaţii referitoare la populaţiile de eritrocite, leucocite şi trombocite oferite de un analizator automat.

De menționat că numărătoarea trombocitelor și reticulocitelor este foarte importantă și ea trebuie efectuată în mod obligatoriu la examinarea hemogramei, în special, în cazurile când sunt devieri patologice ale celorlalți indici sau la cererea medicului clinician.

(o) *Intervalul de referință* biologică – intervalul central de 95% a distribuției valorilor de referință;

Nota 1. Acesta înlocuiește un astfel de termen utilizat greșit precum este "interval normal".

Nota 2. Este o înțelegere arbitrară, dar general acceptată de a defini intervalul de referință drept intervalul central de 95%. În unele cazuri particulare s-ar putea întâmpla ca altă mărime sau o configurație asimetrică a intervalului de referință să fie mai potrivită. Intervalele de referință (valorile „normale") reprezintă mai curând date obținute statistic decât criterii de clasificare a pacienților în persoane bolnave și persoane sănătoase și se bazează pe definiția statistică a normalului (normale fiind acele persoane la care 95% dintre investigații sunt în limite normale, în timp ce restul (5% dintre examinările independente) au valori aflate în afara acestor intervale de referință, în absența unei boli). Tabelele cu valori de referință conțin date statistice valabile pentru 95% din populație; cifrele situate în afara acestor intervale nu indică neapărat prezența bolii.

1.2 Particularitățile de vârstă ale indicilor hematologici

În *tabelele 1.1–1.7* și *figura 1.1* sunt prezentate intervalele de referință ale hemogramei (analizei generale a sângelui) în funcție de vârstă la persoanele practic sănătoase. De menționat că începând cu perioada copilăriei în sistemul sanguin se depistează modificări determinate de vârstă și care se caracterizează printr-o anumită dinamică a nivelului de hemoglobină, eritrocite, leucocite și altor indici ai hemogramei. Chiar din prima zi de la naștere se înregistrează creșterea conținutului de hemoglobină și eritrocite; acești indici într-o anumită măsură cresc din cauza hemoconcentrației și hemotransfuziei placentare, iar începând cu a 2-a zi dimpotrivă, scad. Eritropoieza nou-născutului se caracterizează prin anizocitoză, macrocitoză, micșorarea rezistenței osmotice a eritrocitelor și prezența eritrocariocitelor, care dispar din sângele periferic la sfârșitul perioadei de nou-născut.

Tabelul 1.1

Parametrii normali ai sângelui periferic la adulţi

Indicii		Parametri normali	
		bărbaţi	femei
Numărul de eritrocite (RBC)		4,0–5,0 x 10^{12}/l	3,9–4,7 x 10^{12}/l
Hemoglobina (Hb)		130–160 g/l	120–140 g/l
Valoarea globulară		0,85–1,05	
Volumul eritrocitar mediu (MCV)		80,0–100 fl	
Hemoglobina eritrocitară medie (MCH)		27,0–31,0 pg	
Concentraţia eritrocitară medie de hemoglobină (MCHC)		30,0–38,0 %	
Numărul reticulocitelor		2,0–10,0 %	
Numărul de leucocite totale		4,0–9,0 (5,0–10,0) x10^9/l	
Neutrofile	Nesegmentate	1,0–6,0% (medium 3,5%); 0,04–0,3 x 10^9/l	
	Segmentate	47,0–72,0 % (0,02–0,3 x 10^9/l)	
Eozinofile		0,5–5,0 % (0,02–0,3 x 10^9/l)	
Bazofile		0–1,0 % (0–0,065 x 10^9/l)	
Limfocite		19,0–37,0 % (1,2–3,0 x 10^9/l)	
Monocite		3,0–11,0 % (0,09–0,6 x 10^9/l)	
Numărul trombocitelor		150–400 x 10^9/l	
VSH mm/oră		2,0–10,0	2,0–15,0

Tabelul 1.2

Intervalele de referinţă ale hemoleucogramei în funcţie de vârstă

Vârsta	Eritrocite (x 10^{12}/l)	Hb (g/l)	Ht (%)	VEM (fl)	HEM (pg)	RDW (%)
Nou-născuţi	4,1–6,7	150–240	44–70	102–115	33–39	13,0–18,0
1–23 luni	3,8–5,4	105–140	32–42	72–88	24–30	11,5–16,0
2–9 ani	4,0–5,3	115–145	33–43	76–90	25–31	11,5–15,0
10–17 ani						
Bărbaţi	4,2–5,6	125–161	36–47	78–95	26–32	11,5–14,0
Femei	4,1–5,3	120–150	35–45	78–95	26–32	11,5–14,0

Continuare

> 18 ani					
Bărbaţi	4,7–6,0	135–180	42–52	78–100	27–31
Femei	4,2–5,4	125–160	37–47	78–100	27–31

Notă: Volumul trombocitar mediu – 6,0–9,5 fl pentru toate grupele de vârstă. Trombocitele = 150–400·10^9/l pentru toate grupele de vârstă. Concentraţia medie a hemoglobinei eritrocitare = 32–36 % la toate grupele de vârstă.

Tabelul 1.3

Indicii hemogramei la copiii sănătoşi cu vârsta de 1–12 luni

(Тур А.Ф. и др.,1970)

Vârsta, luni	Eritrocite, 10^{12}/l	Hemoglobină g/l	Trombocite, 10^9/l	Leucocite, 10^9/l	Reticulocite, %	VSH, mm/oră
1	4,1–5,3	124–166	214–366	7,6–12,4	0,49–1,09	3–7
2	3,6–4,8	110–148	207–373	7,2–11,6	0,57–1,33	4–8
3	3,8–4,6	111–135	205–395	7,3–11,1	0,51–1,25	5–9
4	4,0–4,8	112–132	205–375	7,1–11,5	0,39–1,13	4–10
5	3,7–4,5	112–132	203–377	6,6–11,6	0,45–1,01	4–10
6	3,8–4,6	115–135	206–374	6,7–11,3	0,39–0,97	5–9
7	3,8–4,6	111–129	215–365	6,6–11,4	0,44–1,12	5–11
8	3,8–4,6	110–130	199–361	7,2–11,4	0,45–1,09	4–10
9	3,8–4,6	110–130	205–355	7,1–10,9	0,45–1,16	4–10
10	3,8–4,6	110–130	203–357	6,8–11,4	0,44–1,04	4–10
11	3,9–4,7	110–130	207–353	7,0–10,8	0,43–1,07	5–9
12	3,9–4,7	109–131	218–362	6,8–11,0	0,41–1,17	4–10

Tabelul 1.4

Particularităţile de vârstă ale unor indici ai eritrogramei

(Мосягина Е.Н., 1969)

Vârsta	Indicele de culoare	Conţinutul mediu de Hb într-un eritrocit, pg	Concentraţia medie de Hb într-un eritrocit, %	Diametrul mediu al eritrocitului, мкм	Volumul mediu al eritrocitului, fl	Grosimea medie a eritrocitului, мкм	Indicele de sferocitate
1–2 zile	0,91–1,19	30–40	37,4–38,6	7,2–9,0	95–117	2,0–2,2	3,5–4,5
5–6 zile	0,94–1,18	31,1–39,3	36,5–37,5	7,3–9,1	93–113	1,8–2,2	3,5–4,5

Continuare

9–10 zile	0,96–1,16	32,3–38,3	36,5–37,5	7,3–8,9	92–108	1,8–2,2	3,5–4,5
Sfârşitul 3-a săptămână	0,90–1,10	30,3–36,3	35,6–36,4	7,2–8,6	88–102	1,7–2,1	3,6–4,6
» primei luni	0,80–1,00	27–33	31,6–32,4	7,1–8,5	83–97	1,7–2,1	3,6–4,6
» 2-a lună	0,80–0,96	26,3–32,3	30,6–31,4	6,8–8,2	84–96	1,8–2,2	3,3–4,3
» 4-a lună	0,80–0,96	26,3–32,3	30,6–31,4	6,8–8,0	74–86	1,7–2,1	3,4–4,4
» 6-a lună	0,76–0,90	25–29	30,7–31,4	6,7–7,9	71–83	1,7–2,1	3,4–4,4
» 8-a lună	0,77–0,91	26–30	29,7–30,4	6,7–7,9	71–83	1,7–2,1	3,4–4,4
» 1-lui an	0,74–0,94	25–31	29,7–30,3	6,4–7,6	72–84	1,8–2,2	3,2–4,2
» 2-lea an	0,69–0,99	22–32	31,7–32,4	6,7–7,7	72–84	1,7–2,1	3,3–4,3
» 3-lea an	0,70–1,00	22,3–32,3	33,7–34,4	6,8–7,8	77–83	1,7–2,1	3,3–4,3
4–5 ani	0,71–1,01	22,7–32,7	33,6–34,4	6,8–7,8	77–83	1,7–2,1	3,3–4,3
6–10 ani	0,71–1,01	22,7–32 7	33,6–34,4	6,8–7,8	77–83	1,7–2,1	3,3–4,3
11–15 ani	0,75–1,05	25–35	34,6–35,4	6,9–7,9	81–87	1,8–2,2	3,2–4,3

Tabelul 1.5

Indicii hemogramei la copiii sănătoşi cu vârsta cuprinsă între 2–15 ani (Tur A.F. şi alţii, 1970)

Vârsta, ani	Eritrocite, 10^{12}/l	Hemoglobina, g/l	Trombocite, 10^9/l	Leucocite, 10^9/l	Reticulocite, %	VSH, mm/oră
2	4,0–4,4	110–132	208–352	6,6–11,2	0,34–1,0	5–11
3	4,0–4,4	111–133	209–351	6,3–10,7	0,33–1,03	5–11
4	4,0–4,4	112–134	196–344	6,0–9,8	0,38–0,96	6–12
5	4,0–4,4	114–134	208–332	6,0–9,8	0,30–0,96	5–11
6	4,1–4,5	113–135	220–360	5,8–9,2	0,36–1,04	5–11

Continuare

7	4,0–4,4	115–135	205–355	5,9 9,3	0,25–0,97	6–12
8	4,2 4,6	116–138	205–375	5,7–8,9	0,38 0,98	5 11
9	4,1 4,5	115 137	177–343	5,7 8,7	0,38 0,82	6–12
10	4,2–4,6	118 138	211–349	5,8–8,8	0,32 1,0	5 11
11	4,2–4,6	114–140	198 342	5,4–8,8	0,38–0,94	4 10
12	4,2 4,6	118–142	202–338	5,6 8,6	0,36–0,86	5–11
13	4,2–4,6	117–143	192–328	5,4–8,0	0,34 0,94	6–10
14	4,2–4,6	121–145	198 342	5,4–8,2	0,31–0,89	4–10
15	4,4 4,8	120–144	200–360	5,5 8,5	0,36 0,84	5–11

Numărul de reticulocite este crescut în prima zi de la naştere, apoi scade treptat, ajungând la valori minime la sfârşitul primei săptămâni de viaţă a copilului. Tendinţa spre eritrocitoză, hemoglobinizarea crescută a eritrocitelor, reticulocitoza, prezenţa eritrocariocitelor la nou-născuţi sunt cauzate de insuficienţa aprovizionării cu oxigen a fătului în perioada dezvoltării intrauterine. Acest fapt conduce la intensificarea eritropoiezei.

După naştere copilul nimereşte în condiţiile de hiperoxie, se produce mai puţină eritropoietină, fapt ce conduce la o tentinţă de inhibiţie a eritropoiezei. La sfârşitul perioadei nou-născuţilor, numărul de eritrocite şi concentraţia de hemoglobină continuă să scadă şi valorile minime ale acestor indici se înregistrează la vârsta de 2–4 luni. Ulterior, pe parcursul primului an de viaţă, aceşti indici puţin se modifică. Sunt caracteristice hemoglobinizarea mai redusă a eritrocitelor, tendinţa spre hipocromie ca urmare a epuizării rezervelor de fier. După al doilea an de viaţă se constată creşterea nivelului de hemoglobină, volumului eritrocitar, dispare microcitoza. Numărul de leucocite în primele ore după naştere oscilează în limite mari. În primul an de viaţă şi în anii următori numărul total de leucocite scade. În primele 2 săptămâni de viaţă a copilului în sângele periferic sunt prezente mielocite şi metamielocite. Imediat după naştere la copiii născuţi în termen numărul de monocite este scăzut, în următoarele 2 săptămâni creşte, iar apoi din nou scade. Numărul de trombocite în toată perioada copilăriei practic nu se modifică.

Tabelul 1.6

Formula leucocitară la copiii sănătoşi cu vârsta cuprinsă între 1–12 luni, % (Гур А.Ф. и др., 1970)

Vârsta, luni	Neutrofile		Limfocite	Monocite	Eozinofile
	nesegmentate	segmentate			
1	0,9–3,1	17–39	46–70	4,2–11,8	1,8–6,2
2	0,9–3,1	16–34	52–72	4,4–11,6	1–5
4	1,0–3,0	19–39	48–68	3,7–10,3	1–5
5	0,9–3,1	21–39	48–68	3,7–10,3	1–5
6	0,8–3,2	20–40	47–69	3,9–10,1	1–5
7	0,9–3,1	20–40	48–68	4–10	1,9–5,1
8	0,8–3,2	21–43	45–67	3,8–10,2	1–5
9	0,8–3,2	22–42	46–66	4–10	1–5
10	0,8–3,2	24–44	44–64	4–10	1,2–4,8
11	0,8–3,2	25–43	43–65	4–10	0,9–5,1
12	0,8–3,2	23–43	44–66	4–10	0,8–5,2

Tabelul 1.7

Formula leucocitară la copiii sănătoşi cu vârsta cuprinsă între 2–15 ani,%

Vârsta, luni	Neutrofile		Limfocite	Monocite	Eozinofile
	nesegmentate	asegmentate			
2	1–3	28–48	37–61	5–9	1–7
3	1–3	32–54	34–56	4–8	1–7
4	2–4	34–54	33–53	4–8	2–6
5	1–3	35–55	33–53	3–9	2–6
6	1–3	38–58	30–50	3–9	2–6
7	1–3	39–57	32–50	4–8	1–5
8	1–3	41–59	29–49	4–8	1–5
9	1–3	43–59	30–46	4–8	1,5–4,5
10	1–3	43–59	30–46	4–8	1–5
11	1–3	45–57	30–46	3–9	1,5–4,5
12	1–3	44–60	29–45	4–8	1–5
13	1–3	45–59	30–44	4–8	1–5
14	1–3	46–60	28–44	4–8	1–5
15	1–3	45–61	29–45	3–9	1–5

La copii formula leucocitară diferă cardinal de cea a adulţilor (*tabelul 1.6 - 1.7, figura 1.1*). La naştere raportul dintre granulocite şi limfocite este acelaşi ca şi la adulţi, constituind în medie 65% granulocite şi 25% limfocite.

După naştere procentul granulocitelor începe să scadă rapid, iar procentul limfocitelor să crească, astfel că la a patra zi (3–7 zile după naştere) ambele curbe se încrucişează (ambele cifre se egalează). Aceasta este *"prima încrucişare a leucocitelor"*. După prima încrucişare numărul de limfocite continuă să crească, iar granulocitele să scadă şi la finele primului an de viaţă numărul de limfocite atinge valoarea maximă – 65%, iar granulocitele – valorile minime – 25%. Astfel apare un raport invers faţă de valorile nou-născutului, când granulocitele constituie 65% şi limfocitele – 25%. Apoi, numărul de limfocite din nou începe să scadă, iar granulocitele să crească, astfel că la al patrulea an de viaţă (3–5 ani) numărul lor se egalează, adică se produce a *"doua încrucişare a leucocitelor"*. După al 3–5-a an de viaţă procentul granulocitelor începe treptat să crească şi la perioada de pubertate ele ating valorile caracteristice pentru adulţi (65%), numărul de limfocite, dimpotrivă, scade până la valoarea medie de 25%. De aici rezultă că la copii între a 4-a zi şi al 4-lea an după naştere are loc o *"limfocitoză fiziologică"*, care atinge valorile de până la 65%, fapt ce trebuie neapărat luat în considerare la aprecierea formulei leucocitare la copii. Prima şi a doua încrucişare se produce la unul şi acelaşi nivel – 44 %, de aici formula mnemonică – de memorizat cifra 4: *a 4-a zi, al 4-lea an, 44 %.*

Valorile maxime şi minime sunt aceleaşi : 65 % şi 25 %. La nou-născut şi adult numărul de granulocite constituie 65%, de limfocite – 25 %, la a 4-a zi şi al 4-lea an numărul acestora se inversează (*figura 1.1*).

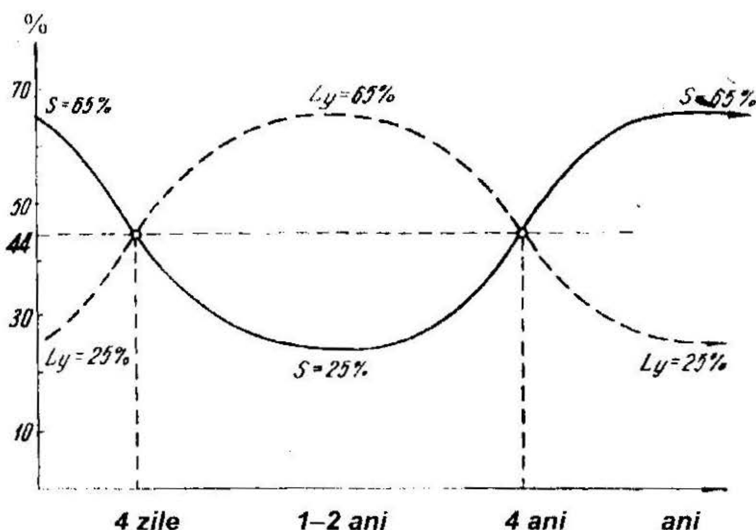


Figura 1.1. **Raportul procentual între granulocite și limfocite în funcție de vârstă.**

Notă: S granulocite segmentate; *Ly* limfocite.

În scopul satisfacerii necesităților clinice, laboratorul va determina *valorile critice* și intervalele lor *„de alertă"*, de comun acord cu clinicienii care utilizează laboratorul *(tab. 1.8)*.

Valorile critice obținute în urma investigațiilor de laborator indică necesitatea unei intervenții clinice prompte. De asemenea, orice *modificare bruscă* poate avea aceeași semnificație. Acestea mai poartă și numele de *valori de acțiune* sau *valori de revenire automată.*

Valorile critice variază în funcție de laboratorul care efectuează analizele respective, de vârsta pacientului, dar și de alți factori.

Tabelul 1.8

Valorile critice ale rezultatelor cercetărilor hematologice care necesită intervenții clinice prompte

Analitul	Valorile critice	
	Nivel scăzut	**Nivel crescut**
Retuculocite		>20%
Ht (hematocritul)	<20%	>60%
Hb	<70 g/l	200 g/l
Număr de tromboci-te (adulți)	<40,0·10^9/l	>1000,0·10^9/l
Număr de tromboci-te (copii)	<20,0·10^9/l	>1000,0·10^9/l
Număr de leucocite	<2,0·10^9/l la un pacient primar sau devierea cu 1,0·10^9/l în comparație cu analiza precedentă cu valorile 4,0·10^9/l	>50,0·10^9/l la pacien-tul din staționar
Frotiu de sânge pe-riferic	Prezența celulelor leucemice (programulocite-lor sau blastelor)	

În plus, medicul va fi prompt informat în oricare din următoarele cazuri:

- prezența în frotiul sângelui periferic a limfocitelor atipice, plasmocitelor;
- rezultate pozitive ale testelor de hemaglutinare directă și indirectă Coombs;
- rezultate pozitive ale testului de hemaglutinare directă (Coombs) în sângele din cordonul ombilical;
- titruri semnificative de alloanticorpi antieritrocitari obținute în cursul sarcinii;
- reacție transfuzională indicând incompatibilitatea unității de sânge transfuzat;
- omisiunea administrării de Ig anti-Rh în primele 72 de ore de la expunerea (posibilă sau sigură) la eritrocite Rh-pozitive;
- test pozitiv pentru hepatită, sifilis, sindrom de imunodeficiență dobândită (SIDA);

– depistarea paraziţilor în sânge *(Plasmodium, Babesia,* microfilarii).

1.3 Factorii care pot influenţa rezultatele testelor hematologice

Orice rezultat obţinut într-un laborator poate fi incorect datorită multor cauze, indiferent de performanţele tehnice; astfel de rezultate trebuie reverificate.

Dacă există indicaţii, trebuie recoltată o nouă probă, care va fi însoţită de datele pacientului, transportată prompt la laborator şi prelucrată imediat; în unele situaţii, se impune confirmarea rezultatelor de către un alt laborator.

În cazul unor rezultate incorecte, cele mai frecvente sunt erorile corelate cu pregătirea pacientului pentru investigaţia de laborator. În consecinţă, pacientul trebuie bine informat pentru ce i se oferă *instrucţiuni simple şi precise, fără termeni medicali sofisticaţi, adaptate capacităţii sale de înţelegere.* Trebuie acordată cea mai mare atenţie etichetării şi identificării complete şi adecvate a fiecărei probe, care e necesar să fie *întotdeauna* însoţită de un formular de prescripţie a investigaţiei.

Formularul de cerere va conţine informaţii suficiente pentru identificarea pacientului, precum şi informaţii ce oferă date privind, după caz, examinările solicitate, informaţia clinică relevantă despre pacient, ce trebuie să includă sexul şi data naşterii, ca un minimum necesar pentru interpretare; data şi ora colectării probei primare; data şi ora primirii probelor de către laborator. Instrucţiunile specifice cu privire la colectarea şi manipularea corectă a probei primare vor fi documentate şi implementate de către conducerea latoratorului. Probele primare trebuie să poată fi atribuite, în mod normal, după formularul-cerere unui individ identificat.

Probele primare la care lipseşte identificarea adecvată nu vor fi acceptate sau procesate de laborator

Laboratorul va monitoriza transportul probelor către laborator astfel ca acestea să fie transportate:

a) într-un interval de timp adecvat naturii cercetării solicitate şi a cerinţelor disciplinare ale laboratorului;

b) într-un interval de temperatură specificat în manualul despre colectarea probei primare şi cu protecţia desemnată pentru asigurarea integrităţii probelor, şi într-un mod care asigură securitate curierului, publicului larg şi a laboratorului primitor, în conformitate cu reglementările în vigoare.

Toate probele primare recepţionate vor fi înregistrate într-o carte de intrări, computator sau alt sistem comparabil. Vor fi înscrise data şi ora recepţionării probei, cât şi identitatea persoanei care le-a primit. Vor fi elaborate şi documentate criterii pentru acceptarea sau refuzul probei primare.

Efectele *medicaţiei* administrate asupra rezultatelor investigaţiilor de laborator nu trebuie niciodată trecute cu vederea. Clinicianul trebuie să fie întotdeauna atent la regimul terapeutic urmat de pacient, la eventualele supradoze de medicamente, de vitamine şi de preparate de fier. Adesea, pacienţii nu spun medicului ce tratamente (prescrise de alţi medici sau autoadministrate) urmează, ceea ce poate determina rezultate fals negative sau fals pozitive. Administrarea medicamentelor cunoscute a interacţiona cu metodele de testare (anticoagulantele, anticonvulsivantele, antihipertensivele, antibioticile sau agenţii antivirali, hipoglicemiantele orale, hormonii, medicamentele psihotrope) ar trebui întreruptă cu câteva zile înaintea testării, la indicaţia medicului.

În tabelul de mai jos sunt prezentate numai rezultatele eronate cu cea mai mare frecvenţă şi semnificaţie clinică. Acest tabel nu include discutarea efectelor medicamentelor asupra rezultatelor testelor de laborator, care sunt chiar mai numeroase, afecţiunile provocate artificial (sindromul Münchausen), erorile tehnice sau administrative.

Tabelul 1.9

Cauzele rezultatelor de laborator eronate la efectuarea investigațiilor hematologice și măsurile necesare pentru identificarea acestora

Rezultatul eronat	Cauza	Măsurile necesare pentru confirmarea diagnosticului
Număr scăzut de trombocite	(a) Aglutinine dependente de temperatură b) Aglutinine dependente de EDTA (c) Supraumplerea eprubetelor incorect vidate	(a) Numărarea corectă a plachetelor când proba este menținută la 37°C (b) Se asociază scăderea numărului de leucocite, creșterea Hb sau Ht (c) Numărarea corectă a plachetelor utilizând sânge citratat sau heparinizat (a,b) Histogramele pot fi anormale. Frotiul de sânge evidențiază un număr normal de plachete; poate evidenția agregarea plachetelor. Frotiul de sânge din deget este normal (c) Utilizează un lot diferit de eprubete vidate
Număr crescut de trombocite	(a) Agregarea plachetelor datorită EDTA la un pacient cu artrită reumatoidă. Particule numărate ca plachete la analizoarele automate (b) Bacteriemie (c) Fragmente de blaști leucemici (d) Eritrocite fragmentate (e) Eritrocite de dimensiuni mici Crioglobulinemie prin numărarea cristalelor de globulină	(a) Prezența factorului reumatoid (b) Prezența bacteriilor pe frotiul de sânge (c) VPM scăzut; prezente celule leucemice. (d) MPV crescut. (e) Frotiu de sânge, numărare manuală a eritrocitelor Număr normal de plachete la numărarea manuală sau după încălzire; depozitele de crioglobuline se observă pe frotiu; histogramă anormală
Număr crescut de leucocite	Particule numărate drept leucocite la analizoarele automate (a) Agregate trombocitare (b) Liză eritrocitară incompletă (c)Crioglobulinemie,	(a) Frotiul de sânge nu evidențiază creșterea leucocitelor; se observă plaje de trombocite (b) Prezența hemoglobinelor anormale sau hepatopatiilor severe (c) Număr normal de leucocite la numărarea manuală sau după încălzire; pe

	numărarea cristalelor de globulină la analizoarele automate (d) Satelitism plachetar	frotiu se observă depozite de crioglobuline; histograme anormale (d) Satelitismul se observă pe probele recoltate pe EDTA, dar nu pe cele heparinizate
Neutrofile scăzute	(a) Aglutinare indusă de frig (aglutinine la rece, criofibrinogenemie) (b) Fragilitatea limfocitelor în leucemia limfatică. Apare în cazul utilizării analizoarelor automate (c) Supraumplerea eprubetelor, cu amestecare inadecvată	(d) Pe frotiu se observă agregate leucocitare; histogramă leucocitară anormală. Se corectează prin numărare la 37°C (e) Se corectează prin numărare manuală. (f) Se asociază reducerea numărului de trombocite, creşterea Hb şi Ht
Număr crescut de reticulocite Creşterea hemoglobinei	Infecţie masivă cu *Plasmodium* (a) Turbiditate datorită numărului crescut de leucocite (b) Creştere marcată a bilirubinemiei	Pe frotiu se observă *Plasmodium* (a) Număr normal de leucocite la numărarea manuală şi frotiu de sânge normal. Interferenţa cu determinarea Hb poate apare la o bilirubină de peste 510 µmol/l; CHEM şi HEM pot fi de asemenea crescute
Creşterea HEM şi CHEM; Hb poate fi disproporţionat crescută Creşterea numărului de eritrocite, scăderea numărului de leucocite şi trombocite	Hiperlipidemia interferă cu determinarea Hb, în special când trigliceridele sunt > 11,3 mmol/l. Amestecarea inadecvată a eprubetei înainte de testare	Valori normale după înlocuirea plasmei pacientului cu lichid de diluţie; histograme leucocitare anormale Se compară numărătorile pe probe preparate corect şi incorect

Continuare

VEM crescut	(a) Creşterea glicemiei (33 110 mmol/l). (b)Întârzierea testării cu 24–48 ore, depozitare la 25°C (c) Filamente de fibrină	(a) Se repetă hemograma după normalizarea glicemiei (b) Se compară cu rezultatele testării imediate sau după păstrare la 5°C (c) Se repetă hemograma utilizând o probă corect recoltată; filamentele de fibrină pot fi observate pe frotiul sanguin; pot fi prezente valori fals crescute ale leucocitelor şi fals scăzute ale trombocitelor, cu număr normal al eritrocitelor şi histogramă normală
VEM crescut cu CHEM redus	Leucocite crescute > 50 10^{12}/l .Reticulocitoză > 50%	(d) Numărare manuală a leucocitelor Numărarea reticulocitelor
VEM crescut, anizocitoză	Aglutinarea la rece a eritrocitelor	Efectuează numărătoarea la 37°C
Reducerea numărului de eritrocite la analizorul automat, VEM crescut, Ht scăzut	Aglutinarea la rece a eritrocitelor	Efectuează numărătoarea la 37°C
Scăderea numărului de eritrocite, leucocite şi trombocite	Recoltare prin cateter, diluarea sângelui	Se compară cu probele recoltate corect
VSH scăzut	(a) Policitemie (b)Eritrocite cu formă anormală (c) Număr foarte mare de leucocite Hipofibrinogenemie	(a) Ht, numărarea eritrocitelor (b)Frotiu pentru drepanocite, sferocite, acantocite (c) Număr de leucocite Semne de CID, necroză hepatică masivă

Notă: CHEM – concentrație de Hb eritrocitară medie; *Hb* hemoglobină; *HEM* – *Hb* eritrocitară medie; *Ht* – hematocrit; *VEM* volumul eritrocitar mediu; *VPM* – volumul plachetar mediu.

Medicul care propune setul de analize trebuie să identifice prin anamneză şi examen clinic factorii ce ar putea influenţa metodele de testare şi rezultatele. Tot el evaluează riscurile la care va fi supus pacientul prin procedurile exploratorii.

Sunt consideraţi factori de risc:

1. Vărsta peste 70 ani.
2. Afecţiunile cronice severe (ex., diabet zaharat, insuficienţă hepatică/renală, astm bronşic, mielom multiplu, convulsiile, bolile neuromusculare), istoricul de alergii pentru latex, substanţe iodate de contrast sau medicamente.
3. Imunodeficienţa: infecţie cu HIV; transplant de organ, chimioterapie, radioterapie.
4. Probleme grave de vedere.
5. Comportamentul agresiv sau antisocial.
6. Administrarea de diuretice, sedative, analgezice.
7. Deshidratarea.

Erori generale:

– neinstruirea pacientului înaintea recoltării;

– pregătirea incorectă sau incompletă a pacientului (ex., dietă neadecvată, administrare concomitentă de medicamente cunoscute a interacţiona cu rezultatele de laborator, deshidratare, postură incorectă, status postprandial, consum de alcool);

– colectarea, manevrarea, păstrarea sau etichetarea incorectă a probelor;

– omiterea unor date importante în completarea formularului de analize;

– erori ce ţin de specimen: tip necorespunzător, recipient neadecvat, volum insuficient, număr insuficient de probe, mediu de transport necorespunzător, conservant absent sau impropriu;

– întârzierea transportării probelor la laborator;

– neeşanteinizarea recipientelor cu pierderea sau contaminarea consecutivă a probelor;

– deteriorarea sau expirarea probelor.

Capitolul II
TEHNICI DE LABORATOR PRIVIND EFECTUAREA ANALIZEI GENERALE A SÂNGELUI

2.1. Recomandări generale pentru colectarea, prepararea şi manevrarea probelor de sânge

Analiza generală a sângelui (hemograma) trebuie făcută totdeauna dimineaţa pe nemâncate cu excepţia cazurilor de urgenţă. Aceasta este o condiţie foarte importantă, deoarece alimentaţia modifică numărul elementelor figurate ale sângelui.

Dacă un bolnav va trebui să repete hemograma de mai multe ori în cursul bolii, este de dorit să i se fixeze totdeauna aceeaşi oră, deoarece elementele sângelui pot arăta modificări în funcţie de oră.

În cazul în care hemograma este practicată pe timp de iarnă şi bolnavul vine în laborator de afară, din frig, i se va recomanda să aştepte 15–30 de minute, în care timp să dispară modificările vasculare provocate de frig, căci acesta produce uneori modificări importante ale hemogramei.

Transpiraţiile mari pot, de asemenea, să modifice mult hemograma. Se va recomanda, deci, bolnavilor să le evite înainte de a veni la laborator pentru recoltare.

Condiţii generale de recoltare. Procedura de colectare a probelor de sânge este un moment foarte important. De exactitatea lui va depinde mersul ulterior al examenelor şi deci exactitatea rezultatelor. De aceea, recoltarea va fi făcută cu multă atenţie şi precizie.

Recoltarea probelor de sânge se face în mod obişnuit dimineaţa pe nemâncate, la bolnavi odihniţi; la femei este preferabil să nu fie în timpul menstruaţiei.

Postura pacientului în timpul recoltării este importantă: se știe că decubitul dorsal timp de câteva ore mărește volumul plasmatic cu 12–15%.

Schimbarea bruscă a poziției cu trecerea în ortostatism poate majora nivelele HGB, HCT, RBC, proteinelor totale, albuminei, colesterolului și ale trigliceridelor, etc; trecerea din ortostatism în decubit dorsal micșorează nivelele HCT, calciului, proteinelor totale și ale colesterolului.

Pregătirea pacientului pentru recoltare:

– se așază pacientul într-o poziție confortabilă (așezat pe scaun sau culcat);

– se consemnează eventualele alergii la dizenfectanți sau latex;

– exceptând situațiile în care se determină alcoolemia, se dezinfectează locul ce urmează a fi puncționat cu alcool 70% prin mișcări circulare aplicate dinspre interior spre exterior;

– se va aștepta până la uscarea zonei, eventual se va șterge cu un tifon; prezența alcoolului poate determina hemolizarea probei;

– se îndepărtează capacul și se inspectează vârful acului înainte de utilizare.

Puncția venoasă. Material necesar:

– mănuși;

– seringi de unică folosință sau vacuumuri adecvate;

– ace sterile cu calibrul de 1 mm și diametrul exterior de 1,5 mm (21–22 sau 22–23 G);

– tifon, vată, alcool sanitar, garou.

În practica curentă pentru examinarea indicilor hemogramei este preferată recoltarea sângelui venos pe un anticoagulant (K^+ – EDTA), e preferabil fără utilizarea garoului sau cu aplicarea lui pentru 1 2 min.

Fiecare laborator își rezervă dreptul de a dicta condițiile în care se vor recoltă probele.

În ultimul timp pentru recoltarea sângelui venos sau capilar sunt utilizate sisteme de o singură folosință – *vacuumuri* cu anti-

coagulant sau fără (eprubete și accesuare de tipul VACUETTE a diferitor firme) *(tabelul 2.1)*.

Tabelul 2.1

Tipuri de vacuumuri

Culoarea capacului	Aditiv	Scop	Precauții	Exemple
Roșu	Fără aditiv sau anticoagulant	Permite coagularea probei și separarea serului	Serul trebuie separat în 45 – 60 min de la puncția venoasă. Se transportă în recipiente din plastic	Biochimie, serologic, determinare grup ABO și Rh
Mov	EDTA	Împiedică coagularea sângelui	Se transportă plasma în recipiente de plastic	Hematologie, hemoleucogramă
Negru	Citrat de sodiu	Leagă calciul și previne coagularea sângelui	Se transportă plasma în recipiente din plastic	VSH (Westerngren)
Albastru	Citrat de sodiu	Leagă calciul și previne coagularea sângelui	Se transportă plasma în recipiente din plastic	Hematologie, timpul protrombinic, TTPA, factori ai coagulării
Verde	Heparină	Împiedică coagularea sângelui.	Se transportă plasma în recipiente de plastic	Biochimie, electroliți, hormoni, gaze sanguine
Galben	Citrat dextroză	Mediu pentru eritrocite	Se transportă la laborator sângele integral	Hemocultură

Vacuumurile au un șir de avantaje, inclusiv:

- simplicitate și inofensivitate;
- nivel înalt de securitate pentru personalul medical;
- permite respectarea strictă a raportului sânge-reagent;
- posibilitatea folosirii eprubetelor la analizoarele hematologice fără deschiderea capacelor, un lucru foarte important;
- posibilitatea folosirii suportului special de tipul „vacu-

drop" pentru prepararea frotiurilor;

– corespunderea cerinţelor standardelor CE şi ISO privind condiţiile de sterilizare;

– adaptarea ideală a sistemului pentru aplicarea în practica pediatrică, etc.

Tehnică. Se inspectează ambele braţe pentru identificarea venelor accesibile. Locul de puncţie: la adult sunt preferate vena mediană cubitală în fosa anticubitală (pot fi punctate şi alte vene).

Se aplică garoul la 4–7 cm deasupra locului de puncţie, recomandând pacientului să strângă uşor pumnul. Se dezinfectează pielea cu alcool şi se lasă să se usuce, apoi se efectuează puncţia.

Recoltarea sângelui pe anticoagulant. În cazul în care examenul sângelui nu se face imediat după colectare, se recomandă ca sângele să se recolteze pe un anticoagulant pentru probele de numărători şi hemoglobină. Imediat după colectare se etichetează şi se poziţionează vertical eprubetele în stativ. Dacă eprubeta conţine anticoagulant, se va roti de câteva ori imediat după colectare.

Acest sânge prezintă avantajul că permite dintr-o singură probă efectuarea unui mare număr de determinări hematologice şi repetarea lor din aceeaşi probă în cazurile necesare. Probele pot fi efectuate la câteva ore de la recoltare, cu condiţia că eprubeta este închisă ermetic şi se păstrează la rece (+ 4^0C) şi nu prezintă hemoliză (nu se recomandă păstrarea probei mai mult de 12 ore).

Este bine să se ştie că nu există nici o diferenţă între rezultatele determinărilor pe sânge venos sau capilar, cu condiţia că sângele venos să fie făcut incoagulabil. Pentru trimiterea probelor cu anticoagulant la distanţe mari se recomandă păstrarea lor, în timpul transportului, în condiţii de izotermie, la + 4 sau 4 - 8°C.

Puncţia capilară se aplică în cazurile când reţeaua venoasă superficială este prost reprezentată sau bolnavul refuză puncţia venoasă din cauza anxietăţii.

Pentru recoltarea sângelui capilar se puncţionează tegumentul degetului inelar sau mijlociu. La nou-născut, sugar şi copilul mic se puncţionează faţa plantară a degetului mare de la picior, călcâiul sau scalp.

Tehnica puncției capilare. După dezinfectarea și degresarea regiunii respective și după evaporarea și uscarea alcoolului se punctează tegumentele cu stiletul de unică folosință rapid și suficient de adânc (2 mm). Trebuie ca sângele să apară de la sine sau după o slabă presiune. Prima picătură se șterge cu hârtie de filtru sau tifon și se așteaptă apariția următoarei picături. Nu se va atinge eprubeta colectoare de locul puncționat. Recoltarea trebuie să se facă rapid și corect și la sfârșit se aplică un tampon de vată cu alcool pe regiunea înțepată. Dacă fluxul este redus, se va evita stoarcerea regiunii înțepate pentru a nu dilua sângele cu limfă (nu se recomandă recoltarea sângelui în agitator).

Măsuri de precauție pentru personalul medical:

Fiecare contact direct cu secrețiile organismului trebuie considerat a fi potențial infectante; de aceea nu se vor atinge fără echipament de protecție produsele din sânge!

- Pentru a reduce riscul de transmitere a infecțiilor la personalul medical sau pacienți se vor folosi tehnici sterile și se vor purta mănuși de unică folosință, halate, măști, ochelari de protecție ș.a! Pot fi excepții de la folosirea mănușilor în situațiile în care purtarea lor ar împiedica palparea venelor în vederea puncției (ex. la nou-născuți sau obezi).
- Nu se vor îndoi, sparge sau scoate acele din seringa folosită fără a purta mănuși!
- Masca trebuie purtată corect, acoperind nasul și trebuie schimbată dacă se umezește!
- Instrumentele ascuțite (ex., ace, bisturie, foarfece) trebuie manevrate cu prudență!
- Resturile biologice sau produsele cu risc de contaminare trebuiesc îndepărtate responsabil!
- Alte măsuri generale includ spălarea cu săpun antibacterian înainte și după contactul direct cu pacientul, înainte de intervențiile chirurgicale sau obstetricale, înainte și după endoscopie sau alte proceduri invazive, spălarea pe mâini imediat după scoa-

terea mănuşilor, spălarea imediată şi atentă a tegumentelor care au fost contaminate cu sânge sau alte produse cu risc.

2.2. Numărătoarea eritrocitelor

2.2.1. Numărarea eritrocitelor la analizoare hematologice automate computerizate

Principiul se bazează pe diferenţa conductibilităţii electrice a particulelor şi lichidului în care acestea sunt suspendate. Elementele sângelui, nimerind în câmpul electric, modifică rezistenţa circuitului, ceea ce este înregistrat de contorul electric automat. Celulele sunt clasate în funcţie de dimensiuni şi impendanţă electrică.

Utilaj: analizor hematologic automat. Pregătirea reagenţilor şi mersul determinării se efectuează conform instrucţiei la aparat.

2.2.2. Numărătoarea eritrocitelor în camera de numărat

Este preferată metodă clasică de numărare a elementelor la microscop în camera Goreaev.

Principiul. Numărarea eritrocitelor la microscop într-o cantitate precisă de pătrăţel a reţelei camerei cu recalcularea ulterioară la un litru de sânge în funcţie de volumul pătrăţelelor şi gradul de diluţie a sângelui (I).

Reactivi: Nr.1. Clorură de sodiu 0,9 % (este preferată).

Nr.2. Soluţie Hayem:

Sublimat corosiv – 0,5 g,
Sulfat de sodiu – 5,0 g,
Clorură de sodiu – 1,0 g,
Apă distilată – până la 200 cm^3.

Utilaj:

- balanţă tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate după GOST 1770–74 cu capacitatea 100 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $10,0 \pm 0,1$ cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $0,020 \pm 0,0002$ cm^3;
- microscop;
- camera de numărat Goreaev (Burker sau altele).

Tehnica de lucru: Într-o eprubeta curată, uscată se pipetează 4 cm^3 reactiv nr.1 sau nr.2. Se recoltează 20 mkl de sânge capilar sau venos. Se şterge atent vârful pipetei şi se suflă sângele la fundul eprubetei; pipeta se clăteşte minuţios de 2–3 ori în stratul de sus al lichidului de diluţie. Conţinutul eprubetei se agită.

Umplerea camerei de numărat. Înnainte de umplere camera de numărat şi lamela se spală şi se şterge până la uscat. Se aplică lamela pe lama celulei de numărat prin simplă păsuire. Este necesară o bună aderenţă între lamă şi lamelă, care este asigurată când se formeaza inele Newton (inele colorate de refracţie). Numai respectând aceste condiţii se poate obţine volumul şi înălţimea stabilă a camerei de numărat. Înainte de umplere se agită de câteva ori conţinutul eprubetei. Cu o baghetă de sticlă cu capătul rotungit se ia o picătură de sânge din eprubetă. Bagheta se apropie de marginea camerei acoperită cu lamela şi se lasă să între, prin capilaritate, în cameră, o cantitate de lichid în spaţiul format între lamă şi lamelă. Se introduce atâta lichid, încât spaţiul dintre lamă şi lamelă să fie umplut în întregime, fără ca lichidul să treacă în şanţurile laterale, fără ca lamela să se deplaseze, fără să între bule de aer în cameră; în caz contrar operaţia se repetă după ştergerea camerei. Se asteaptă o minută, pentru sedimentarea elementelor pe cadrilajul camerei. Se examinează camera la microscop (obiectivul x8, ocularul x10 sau x15, în câmp întunecat (diafragma semiînchisă sau condensorul uşor lăsat în jos). Se numără eritrocitele în 5 pătrate mari conţinând fiecare câte 16 pătrăţele mici (5 x 16 = 80 pătrăţele mici) situate pe diagonală, deoarece eritrocitele se pot distribui neuniform pe suprafaţa cadrilajului. Conform regulii, se numără eritrocitele din interiorul pătratelor mici, iar cele ce se află pe intersecţii se numără numai pe două laturi – de sus şi din stânga. Pentru a evita numărarea de două ori a aceluiaşi eritrocit, elementele situate pe intersecţii pe latura de jos şi din dreapta nu se numără.

Se recomandă numărătoarea eritrocitelor la 2–3 ore după recoltare. În cadrul anemiilor hemolitice şi megaloblastice probele

trebuie efectuate imediat după recoltare, deoarece în aceste cazuri eritrocitele se distrug rapid.

Calcularea rezultatelor. Numărul eritrocitelor în 1 litru de sânge se calculează după formula:

$$X = \frac{a \cdot 4000 \cdot 200 \cdot 10^6}{80}, \text{ unde:}$$

X – numărul de eritrocite în 1 l de sânge;

a – suma eritrocitelor numărate în 5 pătrate mari (80 mici);

4000 – înmultitor, ce exprimă rezultatul într-un microlitru de sânge, fiindcă volumul unui pătrățel mic e de 1/4000 μl;

200 – diluția sângelui;

80 – numărul de pătrate mici numărate;

10^6 – numărul de microlitri în un l.

Practic, cifra de eritrocite găsită pe 80 pătrățele mici se înmulțește cu 10.000 şi aflăm numărul de eritrocite în un l de sânge. Erorile metodei ± 2,5%.

Erori în numărătoarea eritrocitelor:

1. La recoltarea sângelui: înțepătură superficială sau în regiuni puțin vascularizare; stoarcerea degetului, ceea ce conduce la diluția sângelui; erori de pipetare şi diluare.

2. Formarea chiagurilor de sânge, care, reținând o parte de elemente, conduce la un rezultat micşorat de eritrocite.

3. Nerespectarea condițiilor, care asigură înălțimea corectă a camerei din cauza păsuirii inerente a lamelei de acoperire. De asemenea are importanță grosimea lamelei de acoperire (ea trebuie să fie nu mai mică de 0,3 mm).

4. Numărarea inoportună a elementelor imediat după umplerea camerei, fără a aştepta 1 minută; în acest caz eritrocitele nu dovedesc să se sedimenteze pe cadrilajul camerei. Rezultatele obținute vor fi mai reduse.

5. Numărarea unui număr mai mic de pătrățele de pe cadrilajul camerei.

6. Spălarea defectuoasă a materialului folosit; utilizarea pipetelor şi eprubetelor umede.

7. Utilizarea reactivelor necalitativi pentru diluţie ce poate cauza hemoliza eritrocitelor.

Valori normale: bărbaţi – $4,0–5,0 \times 10^{12}$ pe litru;
femei $3,9–4,7 \times 10^{12}$ pe litru .

Notă:

1. În anemii hemolitice şi megaloblastice numărătoarea eritrocitelor se va face imediat după recoltarea sângelui, fiindcă la păstrare eritrocitele se hemolizează rapid.

2. Pentru obţinerea unui rezultat mai exact se vor număra eritrocitele în 2 camere diferite şi se va calcula media aritmetică a rezultatelor celor două numărători.

Valoarea globulară. Este raportul dintre cantitatea de hemoglobină din sânge şi numărul de eritrocite. Ea ne orientează asupra încărcăturii cu hemoglobină a hematiilor. Mai este numită şi indice de culoare sau de cromicitate.

Se calculează împărţind valoarea hemoglobinei [(g / l) x 3] la valoarea primelor trei cifre din numărul de eritrocite pe litru (*e/l*):

$$VG = \frac{Hg \times 3}{primele\ 3\ cifre\ e\ /\ l} \quad (1)$$

Valoarile normale variază între 0,90 şi 1,05. Între aceste limite, se numeşte şi valoare normocromă; scăzută sub 0,90 – hipocromă, iar dacă este crescută peste 1,05 – hipercromă.

Valoarea globulară este un element preţios într-o hemogramă, deoarece indică încărcătura eritrocitelor cu hemoglobină (hiper- şi hipocromia). Pentru evaluarea cantităţii de hemoglobină în eritrocite în prezent se recomandă calcularea conţinutului mediu de Hb în eritrocite (MCH – Mean Corpuscular Hemoglobin) după formula (2) :

$$MCH = \frac{Hg\ (g/e)}{primele\ 3\ cifre\ e\ /\ l}, \text{ unde } (2)$$

e/l – numărul de eritrocite pe litru.
Valori de referință – 27–31 pg (picograme).

2.2.3. Numărătoarea reticulocitelor la colorarea cu albastru briliant de crezil, azur I sau azur II direct pe lamă sau în eprubetă

Reticulocitele sunt hematii tinere, cu dimensiuni mai mari decât hematia obişnuită şi au în interiorul lor o substanță reticulo-filamentoasă dispusă ca o rețea sau uneori numai punctiformă. Numărul reticulocitelor oferă posibilitatea aprecierii activității eritropoiezei. Valorile crescute în anemii arată un proces activ de regenerare a sângelui.

Principiu. Evidențierea substanței granulo-filamentoase din eritrocitele tinere prin colorații vitale în care sângele recoltat, proaspăt, fără să fie fixat, se pune în contact pe lamă sau în eprubetă cu coloranții alcalini. Numărătoarea reticulocitelor se face în frotiuri sanguine.

Reactivi. Poate fi folosit unul din coloranții următori:

1. Albastru briliant de crezil soluție saturată în alcool absolut (1,2 g colorant în 100 ml alcool).

2. Soluție de azur I :
- azur I – 1,0 g,
- NaCl – 0,8 g,
- oxalat de amoniu – 0,4 g,
- alcool etilic 96^0 – 10,0 ml,
- apă distilată – 90,0 ml.

Amestecul obținut în sticluțe bine închise cu un dop rodat se introduce în termostat pe 2 – 3 zile la temperatura 37 ^{0}C, periodic sticluța se agită energic. Apoi colorantul se răceşte la temperatura încăperii, se filtrează prin hârtie de filtru. Se păstrează în sticle întunecate.

3. Soluția azur II:
- azur II - 1,0 g,
- citrat de sodiu – 5,0 g,
- clorură de sodiu – 0,4 g,

– apă distilată - 45,0 ml.

Soluția obținută se lasă la 37 ^{0}C pe 2 zile și se agită periodic.

Pentru a accelera dizolvarea colorantului, amestecul poate fi încălzit la un foc slab, evitând fierberea, timp de 15 – 20 minute. Se răceste până la temperatura camerei și se se filtrează. Se păstrează într-un vas întunecat.

Utilaj special:

- eprubete de dimensiunile 10 cm x 1 cm;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate după GOST 1770 74 cu capacitatea 100 cm^3;
- pipetă dozator cu volumul variabil 0,200–1,000 cm^3;
- pipetă dozator cu volumul variabil 0,040–0,200 cm^3;
- pipete tip Pancenkov cu diviziuni milimetrice de la 0 la 100;
- microscop.

Tehnica colorației direct pe lamă.

Se întinde un frotiu din una din soluțiile sus-numite pe o lamă bine degresată, uscată și încălzită, la flacăra spirtierei se usucă. Așa frotiuri pot fi preparate din timp în număr mare. Apoi pe această lamă se întinde o picătură de sânge ca pentru orice frotiu. Se pune în camera umedă pentru 3–5 minute, apoi se usucă la aer. Camera umedă poate fi o cutie Petri cu un sul de tifon umezit de jur-împrejur cu capac. Eritrocitele se colorează în galben-verzui, iar substanța granulo-filamentoasă în albastru.

Tehnica colorației în eprubetă.

Metoda I. Într-o eprubetă 10x1,0 cm se pipetează 0,04 cm^3 soluție de lucru de albastru briliant crezil (se prepară ex tempore adăugând la o picătură de oxalat de potasiu de 1% 4 picături soluție de colorant) și se adaugă 0,04 cm^3 sânge. Amestecul se omogenează minuțios, dar foarte ușor. După un contact de 30 minute se întind frotiuri subțiri pe lamă, dupa omogenizarea sedimentului.

Metoda II. La 0,05 cm^3 colorant azur II se adaugă 0,2 cm^3 de sânge proaspat. Amestecul se agită minuțios, dar ușor. Peste 20–30 minute se întind frotiuri subțiri. Eritrocitele se colorează în galben-verzui, substanța granulo-filamentoasă – în albastru.

Metoda III. Într-o eprubetă se pipetează 0,3–0,5 cm^3 soluție colorant azur I și se picură cu pipeta Pancenkov 5 6 picături de sânge. Eprubeta se inchide cu un dop din cauciuc, se agită ușor. După un contact de 1–1,5 ore sedimentul se omogenizeaza și se întind frotiuri subțiri.

Această colorație a reticulocitelor se numește „vitală". Atât hematiile, cât și reticulocitele apar colorate în verde, numai că acestea din urmă au în interiorul lor substanța reticulo-filamentoasă colorată în albastru-închis.

Frotiurile se examinează cu obiectivul cu imersie indiferent de metoda de colorație. Se numără reticulocitele întâlnite la 1000 de eritrocite. Pentru ușurare numărătorii se aplică în diafragma ocularului o rondelă de hârtie cu o fereastră tăiată în pătrățel, pentru limitarea câmpului microscopic. La fiecare câmp microscopic se numără reticulocitele și globulele roșii și se însemnează pe o hârtie. Se schimbă mai multe câmpuri microscopice, din diverse puncte ale frotiului, până se ajunge la 1000 hematii. Numărul de reticulocite raportat la eritrocite poate fi exprimat în % sau ‰ (promile).

În mod normal numărul reticulocitelor variază între 0,2–1,2 % în medie 0,7 %. Pentru o mai mare precizie pot fi numărate reticulocitele întâlnite la 2000 3000 de eritrocite. Valorile crescute demonstrează că eritropoieza este eficientă. În prezent pentru colorarea supravitală a reticulocitelor pot fi utilizate truse de firmă.

2.3. Numărătoarea trombocitelor

2.3.1. Numărătoarea trombocitelor prin metode directe în camere de numărat

Principiu. Se bazează pe numărarea trombocitelor, diluate într-o proporție cunoscută și într-un volum cunoscut al camerei de numărat. Se folosește microscopul în contrast de fază.

Reactivi. Soluție 1:

1. Clorhidrat de cocaină – 3 g
2. Clorură de sodiu – 0,25 g

3. Furacilină - 0,025 g
4. Apă distilată - 100 cm^3

Soluție 2:

Oxalat de amoniu 1%. Soluția se fierbe și se filtrează. Se păstrează la frigider.

Utilaj special :

- eprubete de dimensiunile 10 cm x 1 cm;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate după GOST 1770-74 cu 100 cm^3;
- pipetă dozator cu volumul variabil 0,200 – 1,000 cm^3;
- pipetă dozator cu volumul variabil 0,040 – 0,200 cm^3;
- microscop;
- dispozitiv pentru a obține contrast de fază;
- cameră de numărat Goreaev;
- lampă de iluminare pentru microscop.

Obținerea efectului în contrast de fază se efectuează conform instrucțiunii anexate la dispozitiv.

Tehnica de lucru. Într-o eprubetă se pipetează 4 cm^3 soluție 1 sau 2. Se adaugă 0,02 cm^3 sânge recoltat din pulpa degetului. Se așteaptă 25-30 minute pentru liza eritrocitelor. Se agită bine conținutul eprubetei și se umple camera de numărat Goreaev, care se pune în camera umedă. Peste 5 minute se numără trombocitele în 25 pătrate mari.

Calcularea rezultatelor. Numărătoarea trombocitelor în 1 litru de sânge se face după formula :

$$X = \frac{a \cdot 4000 \cdot 200}{400} \cdot 10^6, \text{ în care:}$$

a – numărul trombocitelor în 25 pătrate mari (400 pătrățele mici);

200 – diluția sângelui;

4000 – înmulțitor, ce exprimă rezultatul în 1 µl de sânge, fiindcă volumul unui pătrat mic este egal cu 1/4000 µl;

400 – numărul pătratelor mici numărate;

10^6 – numărul de μl în 1 litru.

Dacă simplificăm calculele, atunci numărul trombocitelor numărate în 400 patrate mici se înmulţeste cu 2000 şi apoi cu 10^6. În mod normal numărul trombocitelor variază la maturi de la 150 x 10^9 până la 400 x 10^9 / litru de sânge.

2.3.2. Numărătoarea trombocitelor în frotiu

Principiu. Metoda este bazată pe determinarea cantităţii de trombocite în frotiuri colorate la 1000 eritrocite.

Reacţivi :

1. Sulfat de magneziu 14% ;
2. Soluţie apoasă de EDTA 6%;

Utilaj:

1. Microscop;
2. Eprubete 10 cm x 1,0 cm;
3. Micropipete Pancenkov.

Tehnica de lucru. Cu capilarul Pancenkov se ia soluţie de sulfat de magneziu 14% sau EDTA până la diviziunea «75» şi se introduce într-o eprubetă de 10 cm x 1,0 cm. În aceeaşi eprubetă se adaugă sânge din capilarul Pancenkov, luat până la diviziunea «O». Conţinutul eprubetei se agită şi din amestec se pregătesc frotiuri subţiri, care se fixează şi se vopsesc după metoda Romanovski-Giemza.

Calcularea rezultatelor. Numărul de trombocite la 1000 eritrocite. Se socoate numărul de trombocite în 1 l de sânge, ştiind cantitatea absolută de eritrocite într-un l de sânge.

Valori normale: Într-un 1 l de sânge se conţin 150 x 10^9 – 400 x 10^9 de trombocite.

Notă. Atunci când se utilizează în calitate de stabilizator soluţia de sulfat de magneziu durata de vopsire va constitui 2–3 ore, iar când se foloseşte EDTA numai 30–45 minute.

3.3. Numărătoarea leucocitelor în camera de numărat

Principiu. Numărătoarea se efectuează la microscop după lizarea eritrocitelor în 100 pătrate mari şi se recalculează la 1 litru de sânge în funcţie de volumul pătratelor şi diluţia sângelui. Probele pot fi numărate nu mai târziu de 2–4 ore după recoltare.

Reactivi.

Soluţie de acid acetic 3–5% colorată cu câteva picături de albastru de metilen de 1%.

Utilaj:

– microscop;
– camera Gorcaev;
– eprubete 10 cm x 1,0 cm.

Tehnica de lucru. Într-o eprubetă se introduce 0,4 cm^3 de acid acetic de 3–5%. Se recoltează sângele în pipeta capilară Sali de 0,02 cm^3 până la unica diviziune a pipetei. Se şterge exteriorul pipetei şi se suflă sângele la fundul eprubetei. Se clăteste pipeta de 2–3 ori cu lichidul de la suprafaţă. Se omogenează conţinutul eprubetei şi se umple camera de numărat.

Umplerea camerei de numărat: vezi numărătorea de eritrocite.

Se examinează camera la microscop (obiectivul x8, ocularul x10, lumină slabă şi diafragma stabilită cu condensorul) şi se numără leucocitele în 100 pătrate mari, ceea ce corespunde la 1600 pătrate mici. Pentru o mai mare precizie leucocitele se numără în toată camera în pătratele mari neseparate în mici începând cu unghiul superior din stânga a camerei.

Calcularea rezultatelor. Numărul leucocitelor în 1 litru de sânge se calculează după formula:

$$X = \frac{A \cdot 250 \cdot 20}{1100} \cdot 10^9,$$ unde:

x – numărul leucocitelor în 1 ml sânge

a – suma leucocitelor numarate în 100 pătrate mari;

100 – numărul patratelor mari;

20 – diluţia sângelui;

250 – coeficient de recalculare la 1 ml, deoarece volumul unui pătrat mare – 1/250 mkl;

10^9 – numărul de microlitri, în 1 litru.

Mai simplu, numărul leucocitelor numărate se înmulţeste cu 50 şi cu 10^6.

Valori normale: numărul leucocitelor variază la adulţi de la 4×10^9 /l până la 9×10^9/ litru de sânge. La numărarea leucocitelor sunt inevitabile erori în 6 – 8% cazuri. La prezenţa în sângele periferic a globulelor roşii nucleate (eritrocariocite), ele nu sunt lizate şi se numără împreună cu leucocitele. În aceste cazuri din cantitatea totală de celule (nuclee) numărate se scade numărul de elemente ale globulelor roşii. Aceasta se efectuează în corespundere cu procentul lor la calcularea formulei leucocitare.

Restul erorilor de determinare sunt descrise la numărarea eritrocitelor.

2.4.Viteza de sedimentare a hematiilor (VSH)

Reprezintă un examen de laborator foarte simplu ca recoltare şi execuţie. Este de o mare valoare clinică, deoarece, fiind un test nespecific, poate fi modificat de prezenţa oricărui tip de proces inflamator, necrotic sau autoimun, ce alternează structura proteinelor plasmatice. ***Actualmente în RM se practică micrometoda Pancencov.***

Principiu. Sângele, fiind tratat cu un anticoagulant şi lăsat în repaus, se desparte în 2 straturi: superior - plasma, inferior – hematiile (eritrocitele). Eritrocitele se sedimentează după un timp variabil depinzând de proprietăţile fizice şi chimice ale sângelui.

Reactivi.

1. 1.Soluţie citrat trisodic de 5%. Soluţia se filtrează. Are un pH neutru sau slab alcalin.

Reacţivul nu este stabil.

Utilaj:

1. Eprubete de 10 cm x 1,0 cm.

2. Aparat Pancenkov constituit din stativ în partea inferioară a căruia sunt dopuri de cauciuc pentru fixarea pipetelor speciale cu diametrul intern de 1 mm. Pipetele au diviziuni milimetrice de la «0» până la «100» (10 cm). Peste fiecare 10 diviziuni sunt notate cifrele 10, 20, 30 etc. până la 100. Diviziunea «0» este completată de litera K (sânge), iar diviziunea 50 de litera P (reactiv). Pipetele şi eprubetele trebuie să fie curate (spălate cu soluţie de bicarbonat şi uscate).

Tehnica de lucru. În pipeta capilară gradată (Pancenkov) în prealabil spălată cu sol. citrat trisodic se aspiră acest reacţiv până la diviziunea 50 «P» şi se suflă într-o eprubetă. Se aspiră imediat cu aceeaşi pipetă sânge până la diviziunea «0» de 2 ori şi se adaugă în aceeaşi eprubetă. Se amestecă. Se aspiră amestecul în pipeta Pancenkov până la diviziunea «0», apoi se astupă cu degetul arătător partea de sus pentru a opri pe loc coloana de sânge. Vârful pipetei se aplică pe dopul de cauciuc de la partea inferioară a stativului, iar capătul superior al pipetei se fixează în partea de sus a stativului. Pipeta trebuie să fie în poziţie perfect verticală. Se notează ora. Rezultatul se citeşte peste o oră. Se exprimă în milimetri pe oră.

Valori normale la adulţi:

bărbaţi – 1–10 mm/oră;

femei 2–15 mm/ora.

Variaţii fiziologice: La femei, în timpul menstruaţiei viteza creşte; valori crescute se întâlnesc în sarcină, mai ales în ultimele luni; la copii viteza este ceva mai mare decât la adulţi.

Surse de erori:

1. nerespectarea raportului 1:4 între reacţiv şi sânge;
2. coagularea sângelui, dacă nu va fi bine omogenizat;
3. poziţia capilarului trebuie să fie verticală, în tuburi înclinate viteza de sedimentare creşte;
4. temperatura mediului mai mare de 20°C grăbeşte sedimentarea, mai mică de 20°C – o încetineşte; între 20 şi 27°C variaţiile sunt de mică importanţă şi determinarea se poate face la t° camerei. În alte condiţii de temperatură cu variaţii mari se recomandă

ca stativul cu tubul să se introducă în termostat cu temperatura constantă de 20 °C;

5. în cazul bolnavilor cu crioglobulinemie, VSH efectuat la t° camerei poate să dea erori mari, datorită împiedicării sedimentării eritrocitelor prin gelificarea plasmei simulând viteze normale sau uşor crescute. În astfel de împrejurări stativul cu tubul de VSH trebuie menţinut la termostat de 37 °C care prin împiedicarea crioprecipitării dă valorile reale în asfel de cazuri. Determinarea trebuie să se facă imediat după recoltarea sângelui, orice întârziere poate să scadă VSH-ul;

6. transportarea sângelui cu citrat dintr-o încăpere în altă la temperatura mai joasă de 0 °C se efectuează în învelişuri de vată;

7. interval prea mare între recoltare şi efectuarea examenului.

Actualmente Comitetul internaţional pentru standardizare în hematologie (ICSH) recomandă metoda Westergreen cu utilizarea pipetei Westergreen de 300 mm gradată de la 0 – 200 în mm. Recoltarea sângelui şi execuţia probelor în ambele metode este similară.

În prezent se practică pipete-capilare pentru examinarea VSH cu filtru şi utilage speciale de firmă pentru automatizarea şi accelerarea dozajului.

2.5. Rezistenţa osmotică a eritrocitelor (rezistenţa globulară)

Principiu. Măsurarea gradului de hemoliză a eritrocitelor în soluţii tampon hipotonice de NaCl. Este un test specific în investigarea anemiilor hemolitice pentru evaluarea însuşirilor fizico-chimice ale membranelor eritrocitelor. Membrana eritrocitelor este total permiabilă pentru apă şi numai parţial pentru săruri. În soluţiile hipertone se produce o reducere în dimensiuni şi zbârcire a eritrocitelor drept urmare a pierderii apei, iar în cele hipotone o umflare a acestora care conduce la hemoliză.

Reactivi:

1. Soluţie stock (care după presiunea osmotică corespunde cu cea a soluţiei de NaCl de 10%); pH – 7,4,

Componența soluției:

a) dihidrofosfat de sodiu (Na_2HPO_4)-27,31 g sau ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ – 34,23 g);

b) monohidrofosfat de sodiu ($NaH_2PO_4 . 2H_2O$) – 4,86 g;

c) NaCl – 180 g;

d) H_2O distilată până la 2 l, pH – 7,4.

Soluția stock se diluează de 10 ori. Se obține o soluție ce corespunde concentrației osmotice a soluției de NaCl de 1% din care apoi se pregătesc mai multe diluții: 0,85%; 0,70%; 0,65%; 0,60%; 0,55%; 0,50%; 0,45%; 0,40%; 0,35%; 0,30%; 0,20%; 0,1% NaCl. Se poate de pregătit câte 100 cm^3 soluție de lucru cu concentrații diferite care pot fi păstrate timp de 2 săptămâni la frigider.

Utilaj special:

– eprubete cu dimensiunile 10 cm x 1 cm.
– balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
– baloane cotate după GOST 1770–74 cu capacitatea 100 cm^3;
– pipetă dozator cu volumul variabil 0,200–1,000 cm^3;
– pipetă dozator cu volumul variabil 0,040–0,200 cm^3;
– pipetă dozator cu volumul variabil 0,005–0,040 cm^3;
– pipete tip Pancenkov cu diviziuni milimetrice de la 0 la 100;
– microscop;
– fotoelectrocolorimetru;
– termostat la 37^{0}C;

Tehnica de lucru. În 2 eprubete sterile ce conțin câte 2 picături de heparină, se adaugă câte 1,5 cm^3 sânge. O eprubetă se pune în termostat pe 24 ore, alta se folosește în aceeași zi a colectării sângelui. Într-o serie din 14 eprubete se toarnă câte 5,0 cm^3 soluție de lucru cu concentrațiile de la 1,0% până la 0,1%. În fiecare eprubetă se adaugă câte 0,02 cm^3 sânge heparinizat, se agită bine și se lasă nu mai puțin de 30 min la temperatura camerei (25^{0}C). Se centrifughează 5 min la 2000 tur/min. Se transferă supernatantul în alte eprubete, care mai apoi se măsoară la fotoelectrocolorimetru la 500–560 nm (filtru verde) în cuve de 10 mm față de proba martor.

Proba martor este supernatantul eprubetei ce conține 1% soluție NaCl.

Calcularea rezultatelor. În calitate de hemoliză de 100% se ia eprubeta ce conține soluție 0,1% NaCl. Apoi se compară absorbția soluției cu hemoliză de 100% cu celelalte eprubete și se calculează procentul de hemoliză în fiecare eprubetă după formula:

$$\text{Procentul de hemoliză} = \frac{Ex \cdot 100}{E_l}, \text{ unde:}$$

E_l – absorbția supernatantului din eprubeta ce conține 0,1% soluție NaCl;

Ex – absorbția probei de examinat;

100 – procentul hemolizei în eprubeta ce conține 0,1% soluție NaCl.

Valori de referință: la persoanele practic sănătoase în sângele proaspăt recoltat începutul hemolizei se înregistrează la concentrația soluției de NaCl 0,5 – 0,45% (rezistența minimă) și hemoliza totală la 0,40 – 0,35% (rezistența maximă).

În ziua următoare, proba se repetă cu sângele incubat 24 ore la 37 ^{0}C.

Notă: Se determină rezistența osmotică în sângele incubat, deoarece în unele cazuri de anemii hemolitice rezistența osmotică joasă poate fi depistată numai în sângele incubat. Tehnica de laborator trebuie efectuată cu multă atenție!

2.6. Analiza morfologică a elementelor figurate ale sângelui și calculul diferențiat al formulei leucocitare

Principiu. Examenul microscopic al frotiurilor sanguine uscate, fixate și vopsite cu descrierea morfologiei eritrocitelor și numărarea diferențiată a leucocitelor cu calcularea raportului lor procentual.

O condiție importantă pentru studierea precisă a particularităților morfologice ale celulelor sanguine prezintă prepararea corectă a frotiului și colorarea lui calitativă.

Etapele metodice:

1. *Prepararea lamelor din sticlă.* Lamele din sticlă trebuie să fie curate și degresate. Pentru aceasta lamele se prelucrează în soluție de detergent 2%. La 20 g de detergent se adaugă 975 g apă +

20 cm^3 perhidrol într-un vas emailat pe 8–10 ore, frotiul sangvin vechi se şterge cu un tampon de vată şi se fierbe nu mai mult de 5–10 minute în aceeaşi soluţie cu detergent + perhidrol pregătită în prealabil. Fierberea mai mult de 10 minute sau într-un vas de aluminiu conduce la opacitatea lamelor.

Apoi lamele se spală în apă curgătoare, se şterg până la uscare şi selectiv se verifică calitatea înlăturării soluţiei cu detergent cu ajutorul soluţiei alcoolice de fenolftaleină 1,0 g/l, pentru ce se aplică 2–3 picături soluţie pe lamă (culoarea roz nu trebue să apară). Lamele spălăte se introduc în amestecul Nikiforov (alcool etilic 96^0 şi eter dietilic în raport de 1:1) şi se păstrează într-un vas curat cu capac.

2. *Fixarea frotiului-amprentă*. Înainte de colorare frotiul sanguin trebuie fixat. Fixarea are scopul de a denatura proteinele din celule şi păstrarea structurii supravitale a lor. Pentru fixarea frotiurilor pot fi utilizate: alcool metilic (5–10 min); acetonă (5 min); alcool etilic absolut (20–30 min). La colorarea după Rait şi Leişman frotiurile nu se fixează, deoarece vopseaua are în componenţa sa alcool metilic. Pentru fixare frotiurile pot fi acoperite cu sau cufundate în cuveta cu fixator.

Reactivi: alcool metilic sau soluţie alcoolică eozin de metilen albastru May-Grünvald. În lipsa acestor fixatori, frotiile-amprentă se expun 35 minute în alcool etilic de 96 ^{0}.

Echipament: pensă, suport pentru uscarea frotiilor-amprentă, borcan cu dop şlefuit.

Fixarea. Frotiile-amprentă uscate la aer se introduc în borcan cu fixator pe 5–10 minute. Apoi se scot din vas cu ajutorul pensei şi se usucă la aer. Pentru fixare se aleg frotiile-amprentă corect preparate: frotiul trebue să aibă o culoare gălbuie, în lăţime să fie amplasat la o distanţă de 1–3 mm de la marginea lamei şi să se termine în lungime cu o «măturiţă», neajungând cu 1,5–2 cm până la capătul lamei.

3. *Vopsirea frotiului-amprentă*. Pentru a colora preparatul se foloseşte un colorant alcătuit din două componente – acidă (eozină) şi bazică (albastru de metilen şi derivaţii săi – azur I sau azur II).

Pentru descrierea corectă a morfologiei celulelor sanguine colorarea frotiurilor ca şi prepararea lor are o importanţă deosebită.

Prima încercare de a colora frotiurile sanguine a fost a lui Ehrlich (1880) cu aşa-numitul „amestec triacidic" care însă a eşuat.

Romanovski D.(1981) a propus metoda de colorare a frotiurilor sanguine, care sub diferite modificări se utilizează şi în prezent. Colorantul lui Romanovski conţinea soluţie albastru de metilen şi eozină. S-a stabilit însă că vopseaua proaspăt pregătită colorează celulele într-un fel, iar vopseaua păstrată – în alt fel, deoarece în timpul păstrării aceşti doi componenţi formează o altă substanţă – azur – cu unele noi însuşiri pentru colorare. Se consideră că cea mai reuşită modificare a vopselei a fost propusă de Giemsa în 1902. El este compus din două componente – partea alcalină (azur II sau azur de metilen), care colorează componenţii acizi ai celulei: acidul ribonucleic, dezoxiribonucleic (se conţin preponderent în nuclee) în roşu –violet-intens (de la albastru-întunecat până la violet), aşa-numită bazofilic. Al doilea component, partea acidă – eozina, se fixează pe componentele alcaline ale celulei (proteinele) în roşu spre roz – eozinofilic. Granulaţiile şi precipitaţiile intracelulare se colorează diferit în funcţie de reacţia lor.

Colorantul ce conţine azur-eozină posedă o sensibilitate înaltă la pH-ul apei. Apa pentru prepararea frotiurilor şi spalăre trebuie să aibă un pH neutru. În cazul când reacţia colorantului este acidă, celulele mult timp nu se colorează şi au o nuanţă roşictică, în cazul reacţiei bazice – eritrocitele se vopsesc într-o culoare gri-albastră, iar nucleul şi citoplasma leucocitelor – în culori foarte întunecate.

În practica curentă pentru colorarea frotiurilor se aplică modificările Noht şi Pappenheim.

a) Coloraţia Noht.

Reactivi:

a) sol. stock azur II 1 g/l : 1,0 g azur II se dizolvă în 1000 cm^3 de apă distilată;

b) sol. stock eozină K, 1,0 g/l : 1,0 g de eozină K se dizolvă în 1000 cm^3 apă distilată.

Soluţiile stock sunt bune pentru folosire după 14 zile de păstrare la temperatura camerei în veselă din sticlă brună cu dop rodat.

1. Soluţie tampon fosfat (amestecul Veize), pH 7,4 7,5;

– fosfat monopotasic (KH_2PO_4) 0,49 g ;

– fosfat disodic dihidrat ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) 1,14 g sau fosfat disodic anhidru (Na_2HPO_4) 0,909 g;

– apa distilata – 1000 cm^3.

2. Soluţia de lucru: se pregăteşte *ex tempore* un amestec din 25 cm^3 soluţie stock azur II, 20 cm^3 soluţie stock eozină K şi 55 cm^3 soluţie tampon fosfat. Proporţiile de coloranţi pot să varieze, acestea fiind stabilite experimental, când se prepară soluţii proaspete de colorant.

Vopsirea frotiurilor. Frotiurile-amprentă fixate se introduc într-un container-suport special, ultimul se afundă într-o cuvă cu soluţie de colorant şi se lasă un timp strict limitat de la 20 până la 50 minute. Containerul se transferă în altă cuvă cu apă de robinet, apoi frotiurile se aşează vertical la uscat pe un suport. Dacă lipseşte containerul-suport, atunci frotiurile după fixare şi uscare se vopsesc fiind plasate pe aşa-numitele "şine" – construcţie formată din două pipete de sticlă unite între ele cu tuburi de cauciuc. În acest caz frotiurile se acoperă cu un strat gros (3 4 cm^3) de soluţie de colorant.

b) Coloraţia Pappenheim.

Reactivi:

1. Soluţie de eozină metilen albastru May-Grünvald. Dacă soluţia aceasta lipseşte, atunci se prepară 5 g/l soluţie, diluând 5 g colorant May-Grünvald praf uscat în 1000 cm^3 alcool metilic. Soluţia este bună de lucru după 4 zile de păstrare la temperatura camerei.

2. Colorantul azur-eozină Noht.

Vopsirea frotiurilor. Frotiurile uscate, nefixate se introduc în container, care apoi se afundă pe 5 min într-o cuvă cu soluţie colorant May-Grünvald. Apoi containerul cu frotiuri se spală într-o cuvă cu apă distilată. În continuare containerul cu frotiuri se transferă într-o cuvă cu soluţie de lucru eozină-azur (după Noht) pentru

8–15 minute. Se spală colorantul, transferând containerul într-o cuvă cu apă de robinet. Frotiurile se usucă la aer.

2.7. Examenul microscopic

Reactivi:

1. Ulei de imersie.
2. Eter dietilic sau alcool etilic.

Echipament. Microscop, contor pentru citirea formulei leucocitare.

Tehnica de lucru. La început se examinează frotiul de sânge la microscop (obiectivul – 10x, ocular 7x). Numărarea formulei leucocitare şi aprecierea morfologică a eritrocitelor se efectuează numai în partea subţire a frotiului amprentă, unde eritrocitele sunt aşezate solitar, dar nu sub formă de "monete în stâlpişor". Apoi la marginea frotiului se aplică o picătură de ulei de imersie şi se stabileşte obiectivul cu imersie (dacă dispunem de un microscop monocular, atunci e mai comod de folosit ocularul 7x, la cel binocular – ocularul 5x). Numărarea leucocitelor se face deplasând obiectivul cu 2–3 câmpuri de vedere de la marginea frotiului şi mişcând frotiul sub formă de zigzag (linia "Meandru"): 3–5 câmpuri de vedere de-a lungul frotiului, apoi 3–5 câmpuri de vedere sub un unghi drept spre mijlocul frotiului, apoi 3–5 câmpuri de vedere paralel cu marginea frotiului şi din nou sub un unghi de 90^0 3–5 câmpuri de vedere spre marginea frotiului. Astfel de mişcări vor fi efectuate până nu va fi calculată jumătate din numărul de celule şi după aceea se trece în partea opusă a frotiului şi se numără altă jumătate din celule.

Determinarea rezultatelor. Se numără numai celulele integre. În normă se depistează următoarele forme de leucocite: bazofile, eozinofile, neutrofile cu nucleu nesegmentat, neutrofile cu nucleu segmentat, monocite şi limfocite. Atunci când în frotiu se depistează plasmocite, forme imature, tinere sau celule blastice, celule dificil de diferenţiat, acestea trebuie să fie incluse în formula leucocitară, iar morfologia lor trebuie să fie descrisă detaliat. Paralel

cu numărarea formulei leucocitare se evaluează morfologia eritrocitelor, acordând atenție anomaliilor de talie (normocite, microcite, macrocite, megalocite), anomaliilor de formă (platicite sau leptocite, ovalocite, microsferocite, celule în țintă, drepanocite-eritrocite falciforme), anomalii de colorabilitate (anizocromie, eritrocite normocrome, hipocrome, hipercrome, policromatofile), la prezența și gradul de exprimare a anizocitozei și poikilocitozei, prezența corpusculilor intraeritrocitari (punctații bazofile, corpusculi Jolly, corpusculi Heinz, inele Cabot, pulbere cromatiniană-granulații eritrocitare azurofile).

Dacă la analiza sângelui nu au fost depistate devieri cantitative în componența elementelor figurate ale sângelui, iar la numărarea primelor 100 de leucocite nu au fost depistate careva modificări în formula leucocitară sau morfologia eritrocitelor, atunci analiza formulei leucocitare se va limita cu numărarea a 100 leucocite. Atunci când vor fi depistate devieri de la valorile normale, va fi necesar de a număra nu mai puțin de 200 leucocite.

Formula leucocitară exprimă conținutul diferitor tipuri de leucocite în procente relative. Date mai precise poate oferi calcularea valorilor absolute, deci a conținutului fiecărui tip de leucocite într-un volum de sânge.

Valorile de referință:

Tabelul 2.1

Formula leucocitară la persoanele adulte practic sănătoase

Tipurile de leucocite	Conținutul în %	Numărul de celule la 1 litru sânge
Bazofile	0-1	$0 - 0{,}065 \times 10^9$
Eozinofile	0,5-5	$0{,}020 \times 10^9 - 0{,}300 \times 10^9$
Neutrofile nesegmentate	1-4	$0{,}040 \times 10^9 - 0{,}300 \times 10^9$
Neutrofile segmentate	47-72	$2{,}000 \times 10^9 - 5{,}500 \times 10^9$
Monocite	3-11	$0{,}090 \times 10^9 - 0{,}600 \times 10^9$
Limfocite	19-37	$1{,}200 \times 10^9 - 3{,}000 \times 10^9$

Particularitățile de vârstă ale formulei leucocitare la copii au fost expuse în capitolul 1.

Capitolul III
STUDIUL MORFOLOGIC AL ELEMENTELOR FIGURATE ALE SÂNGELUI

3.1 Studiul seriei eritrocitare

Dintre toate tipurile de celule ale sângelui eritrocitele sunt cele mai numeroase, cantitatea lor depăşeşte numărul leucocitelor în 1000 ori, iar al trombocitelor de 100 ori. Sistemul hematopoietic la adulţi realizează un echilibru între rata de distrugere fiziologică a eritrocitelor mature şi ritmul de eliberare în circulaţie a celulelor nou-formate. Procesul de reproducere a eritrocitelor este numit eritropoieză şi are loc în măduva osoasă. La adulţi măduva hematopoietică este localizată în coaste, vertebre, stern, scapulă, oasele coxale şi epifizele oaselor tubulare, care generează 200 x 10^9 celule timp de 24 ore, 460 kg timp de 70 ani. Durata vieţii eritrocitelor este de aproximativ 120 zile. Pierderea eritrocitelor are loc pe două căi:

1) apoptoză (durata programată a vieţii şi celulei);
2) hemoliză – sub influenţa diferitor factori patogeni.

Nouformarea eritrocitelor (eritrocitopoieza) asemenea celorlalte celule sanguine se diferenţiază şi se maturizează din celulele stem (şuşă) hematopoietice primitive, pluripotente sub influenţa reglatoare a eritropoietinei *(fig.3.1)*. Aceste celule nu pot fi recunoscute morfologic. Celulele stem treptat se maturizează în celulele recunoscute morfologic pe frotiu - precursori identificaţi morfologic.

De menţionat că până în prezent la noi în ţară şi peste hotare nu există o terminologie unificată pentru denumirea celulelor morfologic identificabile din schema de diferenţiere şi maturaţie a eritrocitelor, deci a eritropoiezei.

Există trei variante de descriere a terminologiei celulelor eritropoiezei normale:

I – proeritroblastul, eritroblastul bazofil, eritroblastul policromatofil, eritroblastul oxifil, reticulocitul, eritrocitul;

II – eritroblastul, pronormoblastul, normoblastul bazofil, normoblastul policromatofil, normoblastul oxifil, reticulocitul, normocitul;

III – eritroblastul, pronormocitul, normocitul bazofil, policromatofil, oxifil, reticulocitul, eritrocitul*.

Notă: * - Ultima variantă este mai reuşită, deoarece este în unison cu nomenclatura celorlalte celule, în primul rând cu cele granulocitare.

Diferenţierea celulelor are loc în etape succesive, care pot fi identificate pe criterii morfologice, ajungând în final în stadiul de reticulocit, care părăseşte măduva osoasă şi trece în sângele periferic.

În cursul procesului de maturare a acestor celule se produc următoarele transformări:

1. reducerea dimensiunilor nucleului şi celulei;
2. creşterea cantităţii de cromatină nucleară condensată (bazicromatină, masă compactă);
3. creşterea în citoplasmă a conţinutului de hemoglobină şi intensităţii coloraţiei roz al acesteia pe frotiuri.

SCHEMA HEMATOPOIEZEI

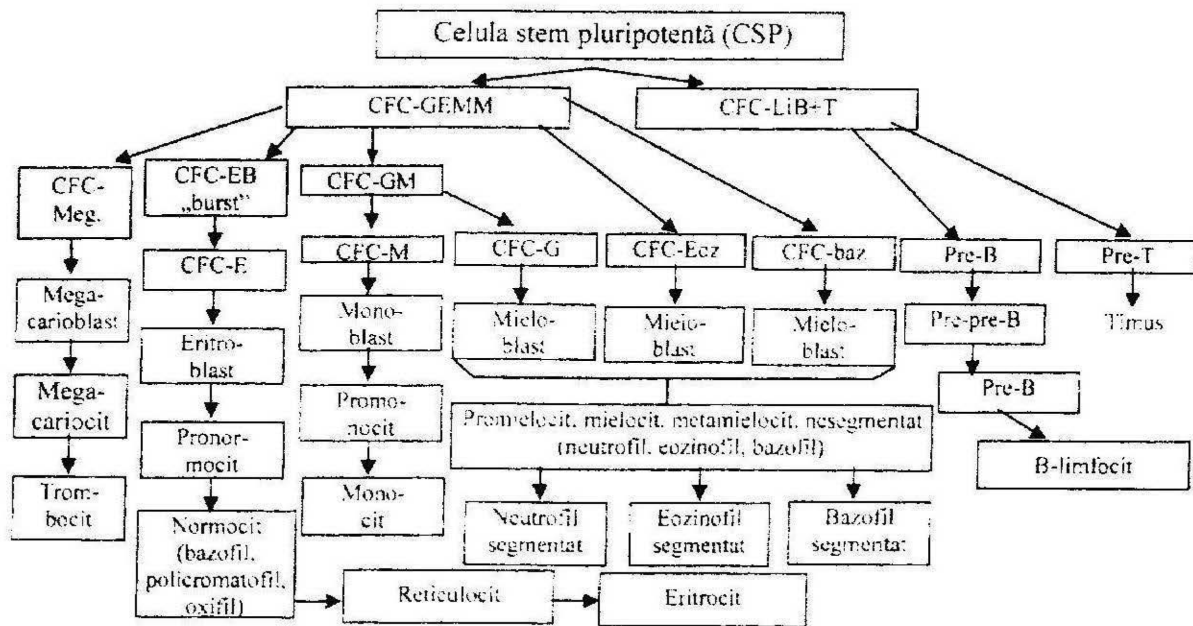


Fig. 1. CSP – celula stem pluripotentă; CFC-GEMM – celula formatoare de colonii mieloide; CFC-LiB+T – celula formatoare de colonii limfoide; CFC-GM – celula formatoare de colonii granulocitare-monocitare. CFC-M – celula formatoare de colonii monocitare; CFC-G – celula formatoare de colonii granulocitare. CFC-EB – celula formatoare de colonii eritroide "burst"; CFC-E – celula formatoare de colonii eritroide. CFC-Meg – celula formatoare de colonii megacariocitare.

3.1.1 Morfologia seriei eritrocitare normale – precursorii identificaţi morfologic

Eritroblastul este celula precursoare de serie, cu dimensiunile de 20–25 µm, rotundă. Nucleul este rotund, voluminos, 80% din celulă; cromatina are structură reticulară uniformă, la întretăierea benzilor de cromatină culoarea fiind mai intensă, în ansamblu, nucleul este de culoare violetă, purpurie-închisă şi are 1–3 nucleoli, puţin distincţi. Citoplasma este redusă la o bandă subţire, intens bazofilă, albastru foarte închis, fără granulaţii. Aceasta prezintă uneori o mică prelungire rotungită într-o singură parte. Aspectul citoplasmei nu este omogen, ea prezintă părţi incolore, în jurul nucleului există un cerc cromofob, foarte subţire.

Pronormocitul este celulă de talie mai mică, 16–18 µm, dimensiunile nucleului sunt mai reduse, în favoarea citoplasmei, care este mai abundentă. Nucleul are culoarea violetă-purpurie-închisă, nucleolii lipsesc. Citoplasma este bazofilă, dar ceva mai deschisă, relativ mai omogenă decât a eritroblastului, şi reprezintă o zonă cromofobă perinucleară mai pronunţată.

Normocitul bazofil e celulă de talie mai mică, 16–18 µm, dimensiunile nucleului sunt mai reduse, în favoarea citoplasmei, care este mai abundentă. Nucleul are bazicromatina grosolan dispusă, în grămezi colorate intens în violet-negru. Grămezile iau o formă pentagonală sau hexagonală, cu dimensiuni care ating uneori 2 µm. Oxicromatina dispusă între grămezi este de culoare roz-deschis. Foarte caracteristică pentru nucleul de normocit bazofil este prezenţa de oxicromatină dispusă radiar în cerc la periferia nucleului, în « spiţe de roată ». Citoplasmă este bazofilă.

Normocitul policromatofil. Se caracterizează prin acumularea hemoglobinei în citoplasmă. Celula este rotundă, cu diametrul de aproximativ 10 14 µm, cu nucleul cu atât mai redus, cu cât celula este mai evoluată şi cu cromatină nucleară în grămezi groase, dispuse în aşa fel încât oxicromatina îşi păstrează desenul în „spiţe de roată". Raportul **nucleo-citoplasmatic** diminuează volumul nucleului ajungând de aproximativ 25%, nucleolii lipsesc.

Citoplasma în funcţie de acumularea hemoglobinei variază de la albastru-violaceu la roz-cenuşiu.

Normocitul oxifil. Celula are forma rotundă, de dimensiuni aproape egale cu ale eritrocitului, 8-9 µm. Nucleul este mic cu cromatina condensată şi citoplasma roz acidofilă asemănătoare cu a eritrocitelor. Nucleul dispare prin expulzie sau prin carioliză şi celula devine un reticulocit medular.

Reticulocitul reprezintă un eritrocit tânăr care îşi păstrează încă mitocondriile şi resturi de ARN. Această substanţă se pune în evidenţă prin coloraţii supravitale cu albastru-crezil-briliant, având un aspect granular şi este denumită substanţă granulo-filamentoasă. Substanţa granulo-filamentoasă apare din stadiul de normocit acidofil în jurul nucleului, încă înainte de dispariţia acestuia. În cursul procesului de maturare a reticulocitelor cantitatea acestei substanţe scade treptat.

Reticulocitele formate în măduvă din normocitul oxifil continuă, procesul de maturare durează încă 1-2 zile, apoi intră în torentul circulator şi rămân în acest stadiu de reticulocit încă 1-2 zile, după ce devin eritrocite mature.

În funcţie de dezvoltarea reţelei de substanţă granulo-filamentoasă se pot distinge 5 tipuri de reticulocite:

Tipul O: reţea perinucleară (în normocitul acidofil).

Tipul I: reţea în ghem strâns (în locul nucleului).

Tipul II: reţea laxă (ocupă toată celula).

Tipul III: reţea fragmentată.

Tipul IV: resturi de substanţă, sub formă de 2-3 puncte izolate.

În mod normal tipul O, I şi II se găsesc numai în măduvă; celelalte, tipul III şi IV, pot fi găsite atât în măduvă, cât şi în sângele periferic, unde se maturează în eritrocit, ce se caracterizează morfologic prin pierderea substanţei granulo-filamentoase şi micşorarea volumului.

Eritrocitul este o celulă discoidală şi biconcavă, de culoare roz-intensă (acidofil) la coloraţia panoptică, centrul celulei fiind mai puţin colorat (depresiune centrală). Diametrul eritrocitului va-

riază între 7 și 8 µm. Este o celulă lipsită de nucleu; citoplasmă sa conține o concentrație mare de hemoglobină.

Cercetările efectuate cu tehnici multiple au stabilit că durata de viață a eritrocitelor este, la individul normal, în medie de 120 de zile.

Pe baza caracterelor morfologice, precursorii eritrocitari din măduva osoasă normală sunt denumiți eritrocariocite, iar procesul de formare a hematiilor adulte – eritropoieză normoblastică. Eritrocitele își exercită funcția în sângele periferic, principala fiind transportul de O_2 și CO_2.

3.1.2 Modificările indicilor eritrocitari în stările patologice

Prin examinarea de laborator a globulelor roșii din sângele periferic pot fi obținute date importante despre modificările numărului lor, nivelului de hemoglobină, dimensiunii, formei și unele caracteristici morfologice ale structurii celulare. Unii indici eritrocitari pot fi calculați pe baza valorilor RBC – numărul de eritrocite; HGB – cantitatea de hemoglobină în sângele periferic; și HCT – hematocritul, care raportează înălțimea coloanei de eritrocite obținute după centrifugare la volumul sângelui total. Informații mai vaste despre indicii eritrocitari pot fi oferite de analizatorul automat.

Indicii eritrocitari care pot fi calculați prin formule în baza indicilor de rutină:

1) *Volumul eritrocitar mediu* (MCV-mean capsular volum) = [hematocritul (%) x 10] : RBC (numărul de eritrocite în milioane/mm^3). Valori normale 80–95 fl (femtolitri).

2) *Hemoglobina eritrocitară medie* (MCH-mean cell hemoglobin) = HGB (g/l : RBC (x 10^{12}/l). Valori normale 27–31 pg (pictograme).

3) *Concentrația eritrocitară medie de hemoglobină* (MCHC-mean cell hemoglobin concentration = [HGB (g/dl) x 100] : HCT (%). Valori normale 32–36 g/dl, sau 32 – 36%.

3.1.2.1 Modificările numărului de eritrocite

Valorile eritrocitelor pot varia în funcție de poziția pacientului în momentul recoltării (pot fi mărite în poziția orizontală), activitatea fizică și stările de stres, gradul de hidratare a organismului, precum și timpul colectării (dimineața sau seara). Devierile pot atinge $\pm 0,5 \times 10^{12}$/l.

În patologie predomină nivele scăzute ale numărului de eritrocite – eritrocitopenie. Stările când micșorarea numărului de eritrocite este asociat de scăderea valorilor hemoglobinei poartă denumirea de *anemie*. Deoarece hemoglobina în mod normal se conține doar în eritrocite, scăderea lor merge de obicei paralel, însă nu totdeauna la același nivel.

De menționat că la indivizi sănătoși există o strânsă corelație între hemoglobină, hematii și hematocrit, care se poate deregla în patologie.

Sunt considerate următoarele criterii pentru diagnosticarea anemiei:

- la bărbați: eritrocitele < $4,0 \times 10^{12}$/l, Hb < 130 g/l, Ht < 40%;
- la femei: eritrocitele < $3,8 \times 10^{12}$/l, Hb < 120 g/l, Ht < 36%.

Există multe forme de anemie care necesită un tratament concret pentru fiecare din ele. La prima etapă a procesului de diagnosticare scopul principal constă în determinarea variantei patogenetice a anemiei, deci a mecanismului principal, care stă la baza scăderii valorilor de eritrocite și hemoglobină, a cauzei anemiei la pacientul concret. Aceste date pot fi obținute doar în baza rezultatelor examinărilor de laborator.

Mecanismele principale ale anemiei sunt următoarele:

1. pierderea de sânge (acută sau cronică);
2. reducerea procesului de formare a eritrocitelor și hemoglobinei (deficit de fier, vitamina B_{12}, acid folic, etc.);
3. scăderea duratei de viață a hematiilor (defecte congenitale și dobândite ale structurii membranei eritrocitare, enzimelor intraeritrocitare și sintezei hemoglobinei).

În baza acestor mecanisme deosebim 3 grupe de anemii:

1. anemiile deficitare: feriprivă, megaloblastică (deficit de vitamina B_{12} şi acid folic);
2. anemiile hemolitice, dobândite şi ereditare;
3. anemiile posthemoragice.

Pentru uz practic este preferată clasificarea patogenetică, deoarece această clasificare, completată cu alte teste de laborator, permite de a evidenţia mecanismele de dezvoltare a anemiei şi aplicarea unui tratament specific.

Eritrocitoza prezintă creşterea valorilor de eritrocite şi hemoglobină într-o unitate de volum al sângelui (1 litru). Valoarea hematocritului depinde de volumul eritrocitar şi prin urmare reprezintă un indice veritabil al policitemiei, fiind în aceste cazuri la bărbaţi mai mare de 52% şi la femei de 47%. Eritrocitoza poate apărea fie prin creşterea totală a volumului de hematii în circulaţie *eritrocitoză absolută*, fie prin scăderea volumului plasmatic – *eritrocitoză relativă*.

3.1.2.2 Anomalii ale indicilor eritrocitari care pot fi descrise pe frotiu

Termenii folosiţi pentru a descrie modificările hematiilor la examenul frotiului de sânge periferic sunt următorii:

Anizocitoză - pe frotiu hematiile au un diametru variat.

Anizocromie pe frotiu eritrocitele au diferit grad de coloraţie.

Acantocitoză – eritrocite cu ghimpi multipli ai citoplasmei de diverse dimensiuni.

Eritrocite cu punctaţii bazofile (granulaţii bazofile). Punctaţiile bazofile din eritrocite se prezintă sub formă de granule uşor inegale ca mărime, numeroase, răspândite destul de uniform în celulă. Se colorează cu May-Grünwald-Giemsa în albastru-violaceu; mai net şi mai sigur apar cu coloraţia cu albastru de metilen, în nuanţă albastră-verzuie. Se întâlnesc în special în intoxicaţia cu plumb (saturnism), dar se pot întâlni şi în alte anemii, cum ar fi talasemia, anemii megaloblastice.

Eritrocite hipercrome. Coloraţia eritrocitelor este mai intensă.

Eritrocitele hipocrome (hipocromie) sunt palide în comparație cu cele normale. Astfel de celule sunt slab încărcate cu hemoglobina și hipocromia este aproape totdeauna însoțită de microcitoză.

Anulocitul este un eritrocit hipocrom cu hemoglobina concentrată la periferie, încât centrul pare complet necolorat, lipsit de conținut, dând elementului aspectul unui inel. Eritrocitele hipocrome și anulocitele sunt caracteristice pentru anemiile fierodeficitare și talasemii.

Macrocite – eritrocite cu diametrul între 8–9 μm. Macrocitoza reprezintă o stare în care predomină macrocitele. Se întâlnește în anemiile megaloblastice, posthemoragice acute, afecțiunile hepatice, la nou-născuți și în alcoolismul cronic.

Megalocite – sunt eritrocite mature care rezultă din megaloblast cu diametrul 10–12 μm și mai mult intens colorate. Sunt specifice pentru anemiile megaloblastice.

Microcite – eritrocite cu diametrul mic 5–6 μm.

Microcitoza – o stare când în frotiu predomină microcitele, este caracteristică pentru anemiile feriprive.

Sferocite și microsferocite – eritrocitele care își pierd aspectul biconcav și devin sferice. Hematiile sunt intens colorate, pierd zona centrală palidă și au un diametru mai mic decât hematia normală. Sunt specifice pentru microsferocitoza ereditară (sferocitoza ereditară).

Hematii "în țintă" – în hematii se observă două zone intens colorate – una la periferia eritrocitului și alta în centrul acestei, între ele se află o zonă incoloră "semn de tras la țintă". Se întâlnesc în talasemii.

Dacriocite – eritrocitele au forma unei picături.

Drepanocite *(eritrocite falciforme).* Eritrocitele falciforme, cunoscute și sub numele de drepanocite, au formă de seceră, de virgulă sau uneori de bastonaș. Ele caracterizează hemoglobinoza S (drepanocitoza).

Forma drepanocitară a eritrocitelor este mult favorizată, dacă se lasă sângele în cameră umedă mai multă vreme și în prezența

substanțelor reductoare, cum sunt cisteina sau metasulfitul de sodiu. Caracterul falciform este legat de prezența hemoglobinei S.

Stomatocite (bucocite) – eritrocite în care depresiunea centrală (slab colorată) nu are forma rotundă, ci alungită, lungă, asemănătoare cu gura semideschisă. Sunt caracteristice pentru stomatocitoza ereditară.

Ovalocite (eliptocite) – eritrocite de formă ovală, se întâlnesc (peste 25%) în ovalocitoză ereditară.

Poikilocitoza. Existența pe frotiu a hematiilor cu forma variată. Se întâlnesc frecvent în anemiile megaloblastice.

Eritrocite policromatofile. Unele eritrocite nu sunt colorate în roz, ci prezintă o serie de nuanțe, de la roz-cenușiu la albastru-cenușiu și albastru-violaceu. Sunt celule mai mari, ce provin din normocite care și-au pierdut nucleul într-un stadiu mai tânăr, în felul acesta încărcarea lor în hemoglobina este mai mică decât în mod normal. Colorația vitală demonstrează că aceste eritrocite policromatofile sunt reticulocite și se întâlnesc în anemiile hemolitice.

Schizocite – elemente mici, cu diametrul de 2–4 μm, rotunde sau deformate. Se crede că schizocitele rezultă dintr-o fragmentare patologică a eritrocitelor. Se întâlnesc în anemiile hemolitice și megaloblastice.

Corpusculii Heinz (Ehrlich-Heinz) sunt granule mici, rotunde, puține la număr, așezate adesea spre periferia celulei, mai frecvent izolate, unice; pot fi însă și multiple. Nu se colorează prin metoda pancromică, ci numai prin coloranți vitali, cum ar fi albastru de Nil, violetul de metil, albastru briliant de crezil și reprezintă o hemoglobină precipitată în anemiile cu deficit de glucozo-6-fosfat dehidrogenază și unele hemoglobinopatii.

Corpii Jolly (Howell-Jolly) – corpusculi intraeritrocitari, rotunzi, în număr mic (2–3), formați din material nuclear. Apar la pacienți după splenectomie și în anemiile megaloblastice.

Inele Cabot – în eritrocit se observă formațiuni azurofile subțiri, filiforme sub formă de inel sau cifra opt și prezintă resturi de membrană nucleară. Apar în anemiile megaloblastice.

Inele Cabot – în eritrocit se observă formaţiuni azurofile subţiri, filiforme sub formă de inel sau cifra opt şi prezintă resturi de membrană nucleară. Apar în anemiile megaloblastice.

În *figura 3.1* sunt expuse modificările hematiilor în normă şi diverse stări patologice care pot fi depistate la examenul frotiului de sînge periferic.

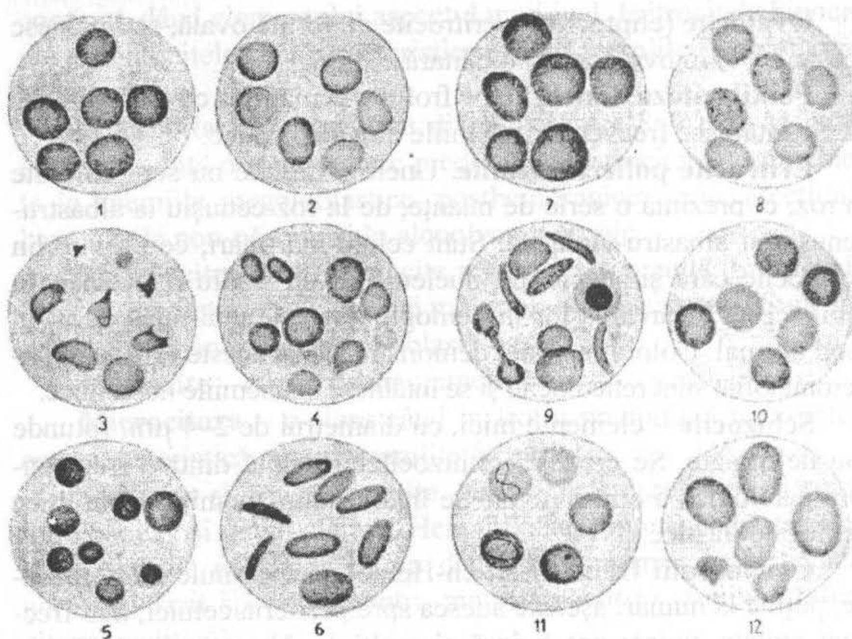


Fig.3.1 **Eritrocitul normal şi patologic (după Heilmeyer):** 1 – normal; 2 – hipocromie; 3 – poikilocitoză; 4 – anizocitoză; 5 – microcitoză; 6 – ovalocitoză; 7 – macrocitoză; 8 – granulaţii bazofile; 9 – drepanocite şi resturi nucleare; 10 – hipercromie; 11 – corpusculi Jolly şi inele Cabot; 12 – megalocitoză.

3.2 Studiul seriei leucocitare

Leucocitele reprezintă un grup de celule eterogene, care sunt clasificate după câteva principii:

1. după provenienţă – mieloide şu limfoide;

Granulocitopoieza. Diferențierea și maturarea celulelor granulocito-poiezei are loc în măduva osoasă din celulele progenitoare ale granulocitelor. Până la apariția granulocitului matur circulant celulele stem, morfologic neindentificabile parcurg succesiv următoarele stadii: mieloblastul, promielocitul, mielocitul, metamielocitul, granulocitul cu nucleu nesegmentat și segmentat. Mieloblaștii, promielocitele și mielocitele posedă capacitatea de proliferare – diviziune (înmulțire), metamielocitele, granulocitele cu nucleu nesegmentat și segmentat – prezintă stadii de maturare.

Procesul de formare a granulocitului matur în măduva osoasă din mieloblast se realizează în decurs de 10–13 zile.

Granulocitele mature sunt reținute în măduva osoasă timp de 3–4 zile, prezentând un rezerv care poate fi mobilizat după necesitățile organismului preponderent în infecții. Numărul granulocitelor în măduva osoasă este de 10 ori mai mare decât în circulație. În mod normal din măduva osoasă în circulația sanguină pătrund numai celulele mature.

3.2.1 Morfologia celulelor granulocitopoiezei

Mieloblastul. Diametrele sale sunt de 15–20 μm, forma rotundă sau, mai adesea, neregulat rotundă sau ovalară. Nucleul este mare, ocupă aproape toată celula, oval, cu structură cromatiniană fină, hipocromă, cu mai mulți nucleoli (până la 2–5) de culoare albastră-deschisă.

Citoplasmă este bazofilă, de diferite nuanțe nu prezintă granulații, însă la celulele mai mature se întâlnesc deseori câteva granulații azurofile, care reprezintă dovada trecerii spre promielocit. Morfologic se aseamănă cu eritroblaștii, dar citoplasma eritroblaștilor este mai intens bazofilă.

Promielocitul. Este o celulă mare, de 20–25 μm (cea mai mare celulă din seria granulocitară), de formă rotundă sau ovulară.

Nucleul este mare, ovular, situat în centru. Se pot întâlni și promielocite cu nucleoli neclar vizibili. Cromatina nucleară fină începe să se condenseze din loc în loc.

Citoplasma bazofilă prezintă granulaţii azurofile primare (nespecifice). Ele au diferite aspecte, atât după formă, cât şi după culoare: punctiforme, bastonaşe, virgule, roşii-închise sau roşii-intense.

Mielocitul. Are dimensiuni între 10 şi 18 µm. Nucleul este rotund sau ovular mai mic şi mai închis la culoare decât al promielocitului, prezintă grămezi de cromatină, structura fiind mai grosolană; nucleolii de obicei lipsesc.

Citoplasmă este slab bazofilă, virată spre acidofilie de culoare roz-palid. Se păstrează granulaţiile primare (nespecifice) şi apar granulaţiile specifice: neutrofile, eozinofile şi bazofile.

Mielocitul neutrofil reprezintă granulaţii neutrofile, brune, fine şi foarte numeroase, pe un fond de citoplasmă roz-palid.

Mielocitul eozinofil reprezintă granulaţii eozinofile numeroase, de talie mare, rotunde, de culoare portocalie, lipite unele de altele, acoperind toată citoplasma.

Mielocitul bazofil conţine granulaţii de talie mare, neregulate după formă şi dimensiuni, mai puţin numeroase. Se colorează în violet-închis spre albastru.

Metamielocitul. Are dimensiuni de 10–15 µm. Relaţiile nucleo-plasmatice constituie 1:1. Nucleul reniform este în formă de potcoavă sau bob. În structură grămezile de cromatină devin mai grosolane.

Citoplasma este de culoare roz, reprezintă granulaţii diferenţiate în cele 3 direcţii: neutrofile, eozinofile şi bazofile.

Granulocitul nesegmentat. Diametrul este de 10–16 µm. Structura nucleului devine mai grosolană având forma alungită, luând diferite poziţii: bastonaşe, literele „S", „U".

Citoplasma este acidofilă (roz) şi conţine granulaţii diferenţiate: neutrofile, eozinofile sau bazofile.

Prin strangularea nucleului, granulocitul nesegmentat, cu nucleul în formă de garou sau îndoit, devine segmentat cu 2, 3, 4, 5 segmente de nuclee. Se consideră segmentate celulele la care punţile de legătură între segmentele nucleare sunt mai subţiri cu $^1/_2$, 50% decât grosimea segmentelor.

Granulocitul nesegmentat este prima celulă din seria granulocitopoiezei care poate fi găsită în mod normal în sângele periferic, în proporție de 1–4%.

Granulocitul segmentat. Aceste celule au nucleul polisegmentat. După dimensiuni variază între 12 și 15 μm. Nucleul caracteristic prezintă structura descrisă la granulocitul nesegmentat. Cu cât celula este mai matură, cu atât are mai multe segmente, în mod normal, putem găsi până la 5 segmente; în stări patologice se pot găsi un număr mai mare, de exemplu în anemia megaloblastică.

Granulocitul segmentat neutrofil are citoplasmă acidofilă, este roz-palid, cu granulații neutrofile; nucleul are 2–5 segmente.

Granulocitul segmentat eozinofil are citoplasmă plină de granulații caracteristice portocalii. Este important de remarcat că nucleul granulocitului eozinofil reprezintă numai 2 segmente (nucleu în bisac), și mult mai rar 3 segmente.

Granulocitul segmentat bazofil se recunoaște prin prezența granulațiilor bazofile care acoperă aproape toată citoplasma, multe întâlnindu-se suprapuse peste nucleu. Nucleul este segmentat, deseori neregulat, în linii generale, bazofilele sunt ceva mai mici decât neutrofilele și eozinofilele.

În mod normal, mieloblastul, promielocitul, mielocitul și metamielocitul se găsesc numai în măduva hematopoietică. Granulocitele mature ce rămân în măduva osoasă circa 3 zile, formând fondul de rezervă, ulterior trec în sângele circulant. Ele circulă aproximativ 10 ore, apoi migrează în țesuturi, unde își exercită funcțiile specifice și se necrotizează.

Funcțiile principale ale granulocitelor neutrofile sunt:

Granulocitele neutrofile posedă proprietatea de a *fagocita* și de a digera bacteriile și particule străine.

Granulocitele eozinofile posedă de asemenea proprietatea de a *fagocita*, deși într-un grad mai mic decât neutrofilele. Eozinofilele sunt celulele efectoare în distrugerea prin anticorpi a helminților, reglează reacțiile de hipersensibilitate imediată. Eozinofilele sunt sporite în stările de alergie, conțin în granulații o mare cantitate de histaminază.

Funcţiile granulocitelor bazofile sunt puţin cunoscute. Ele eliberează heparină şi histamină.

3.2.2 Anomaliile celulelor seriei granulocitare

În multe stări patologice leucocitele circulante pot prezenta alterări numerice, morfologice sau funcţionale. Însuşirea tehnicilor privind numărătoarea leucocitelor şi determinarea morfologiei lor poate fi de un real folos pentru orice clinician, indiferent de specialitatea lui.

Variaţiile numărului de granulocite sunt cele mai frecvent întâlnite şi pot fi asociate atât cu afecţiuni benigne (de natură netumorală), cât şi maligne (leucemii).

Leucocitoza – reprezintă o creştere a numărului absolut de leucocite neutrofile, eozinofile, bazofile, precum şi a monocitelor şi limfocitelor peste valorile normale – 11 x 10^9/l.

Leucopenia – este definită prin scăderea numărului absolut de leucocite sub valorile normale – 4 x 10^9/litru. Ea poate fi cauzată de diferiţi factori.

Analiza generală a sângelui de rând cu numărătoarea leucocitelor în cifre absolute (mm^3 sau litru) include examinarea frotiului de sânge periferic şi determinarea formulei leucocitare – raportul procentual la o sută a diferitor forme de leucocite (indice relativ). La aprecierea rezultatelor formulei leucocitare este necesar de luat în calcul şi conţinutul numeric al fiecărui tip de leucocite, în cifre absolute, care poate fi calculat din numărul total de leucocite şi conţinutul procentual al tipurilor de leucocite. În unele cazuri nu există o corelaţie (normală) între parametrii cantitativi şi cei procentuali, deci modificarea valorilor procentuale al unui tip de leucocite nu întotdeauna indică modificarea lor numerică, în cifre absolute.

3.2.2.1. Modificările numărului de granulocite

Neutrofilie (leucocitoză cu neutrofile) se numeşte creşterea numărului absolut al leucocitelor neutrofile în sângele periferic

mai mult decât 7,0 x 10^9/litru. O cauză importantă a leucocitozelor cu neutrofile este infecția în special cu bacterii piogene.

Alte cauze pot fi: inflamațiile acute și cronice, procesele purulente, necroza tisulară, tulburări metabolice, bolile maligne nehematologice și hematologice. Neutrofilia poate apărea în unele stări fiziologice: activitate fizică, stres, sarcină.

În linii generale, neutrofiloza cu neutrofile, constatată izolat în cursul unei stări febrile, este o indicație despre un eventual focar purulent sau o stare septică. Determinarea cifrei absolute a neutrofilelor, deci numărul lor pe litru, este necesară.

Neutrofilele circulante la persoanele sănătoase sunt celule mature (polimorfonucleare, segmentate) și un număr mic de celule nesegmentate. În unele stări patologice în circulație apare un procent mic de mielocite și metamielocite. Această stare este denumită devierea la stânga a formulei leucocitare. Devierea la stânga a formulei leucocitare demonstrează existența unei granulocitopoieze accelerate care apare în infecții bacteriene acute, arsuri severe. Neutrofilele în aceste cazuri pot fi vacuolizate, granulații toxice și corpii Dohle. Atare modificări morfologice prezintă indici ai gravității procesului.

Reacțiile leucemoide de tip mieloid (cu numărul crescut de neutrofile). În unele cazuri examinarea frotiului de sânge periferic descrie anomalii, care se aseamănă cu modificările caracteristice pentru leucemiile granulocitare cronice. În aceste condiții numărul de leucocite este majorat, iar în formula leucocitară apar forme tinere: promielocite – 1%; mielocite – 5–10%; metamielocite – 10–15%.

În neutrofile pot fi prezente granulații toxice și corpii Dohle. Reacția leucemoidă cu număr crescut de neutrofile poate apărea în infecții severe bacteriene, intoxicații, hemoragii severe, boli maligne cu metastaze osoase. Ele trebuie diferențiate de leucemia granulocitară cronică.

Neutropenie. Conținutul neutrofilelor e sub 1,5 x 10^9/litri.

Neutropenia se întâlnește în unele boli infecțioase, cum ar fi febrele tifoidă,. paratifoidă, bruceloză, în viroze, cum ar fi gripa,

rujeola, rubeola, în boli prin protozoare: paludism, kala-azar, febră recurentă.

Neutropenia poate fi prezentă la pacienții care au administrat variate medicamente. Când numărul de neutrofile scade sub 0,5 x 10^9/litri (500/mm^3), vorbim de agranulocitoză.

Eozinofilie. Se caracterizează prin creșterea numărului absolut de eozinofile peste 0,6 x 10^9/litri. Numărul general de leucocite sanguine poate fi normal sau crescut.

Eozinofilia se întâlnește în diverse afecțiuni:

– stări alergice, dermatoze, parazitoze;

– sindromul Loeffler (pneumopatie cu eozinofile); sindromul hiperezinofilie;

– hemopatii: leucemia mieloidă cronică.

Eozinopenia – micșorarea numărului de eozinofile sub 0,05 x 10^9/litru – se întâlnește în faza de început al unor agresiuni, de exemplu, boli infecțioase, intoxicații sau după administrare de hormoni corticoizi sau ACTH.

Bazofilia. Granulocitele bazofile cresc supra 0,15 x 10^9/litru în leucemiile mieloide cronice. Asocierea de bazofilie cu eozinofilie este un semn frecvent întâlnit și precoce in leucemia mieloidă cronică.

Importanța cercetării variațiilor granulocitelor în cursul bolilor infecțioase. Creșterea sau scăderea excesivă a granulocitelor indică un prognostic nefavorabil. Prezența formelor cu granulații toxice – corpii Dohle – sau a formelor degenerative ține de asemenea de prognostic nefavorabil. Prezența formelor tinere în număr mare, mai ales când depășesc numeric pe cele mature, are iarăși o semnificație nefavorabilă. Absența eozinofilelor are aceeași semnificație.

Evoluția favorabilă, vindecarea se anunță prin diminuarea formelor imature și a celulelor cu granulații toxice, însoțită de creșterea eozinofilelor, apoi a monocitelor și în cele din urmă a limfocitelor.

3.2.2.2 Anomaliile morfologice ale granulocitelor

Anomaliile morfologice pot fi *dobândite* şi *ereditare*.

Anomaliile dobândite sunt prezente în infecţii grave şi intoxicaţii, indică evoluţia bacteriemiei şi generalizarea infecţiei. Modificările morfologice apar atât în structura nucleului, cât şi a citoplasmei.

1. Granulaţii toxice – citoplasma conţine un număr mare de granule intens azurofile de dimensiuni mari.
2. Vacuolizarea citoplasmei – se observă mai rar, comparativ cu granulaţiile toxice. Citoplasma poate prezenta zone incolore.
3. Neutrofile hipogranulare sau hialine – se caracterizează prin diminuarea sau dispariţii ale granulaţiilor citoplasmatice.
4. Vacuolizarea nucleului – nucleul prezintă zone incolore.
5. Hipersegmentarea nucleului neutrofilelor – conţine mai mult de 5 lobi. Se observă în anemiile megaloblastice, pot fi şi de natură ereditară.
6. Cromatofinoliza nucleelor – nucleul are formă de inel.
7. Corpii Dohle – sunt incluzii citoplasmatice de 1–2 µm lungime, de culoare albastră-cenuşie, situate la periferia celulei. Prezintă zone ale citoplasmei lipsite de granulaţii.
8. Nucleofagocitoza. Celulele LE, fenomenul LE (lipus erythematosus). Se observă mai des la pacienţii cu lupus erythematosus (80%), uneori în artritele reumatice, sclerodermie. Prezintă neutrofile, care au fagocitat (înglobat) substanţa nucleară fracţionată, devizată în bucăţi care are forma rotundă sau ovală, de culoare roşie-intensă, ocupă porţiunea centrală a celulei, uneori toată celula, iar nucleul propriu al neutrofilelor este împins spre periferie. Prin urmare, celulele LE reprezintă neutrofile (uneori eozinofile sau monocite) care au fagocitat substanţa nucleară omogenizată (nu are formă de nuclee) a altor celule descompuse prin procesele autoimune. Acest proces se produce numai in vitro, la incubarea sângelui.

Celulele-LE trebuie diferenţiate de celulele Tart ce reprezintă o substanţa nucleară fagocitată care păstrează structura morfologică a nucleului.

Anomalile ereditare se împart în anomalii **calitative şi cantitative**. Din anomaliile calitative fac parte:

– **Anomaliile nucleare** privesc mai ales gradul de segmentare a nucleelor.

1. *Anomalia Pelger-Huet* este o anomalie ereditară transmisă pe cale dominantă, caracterizată prin absenţa de segmentare a nucleului granulocitelor; aproape toţi nucleii sunt nesegmentaţi sau prezintă cel mult 2 lobi. Structura cromatiniană este mai grosolan condensată, decât la normal. Astfel de nesegmentate se mai numesc şi pseudometamielocite. Indivizii purtători de o astfel de anomalie a granulocitelor nu prezintă nimic patologic. Anomalia se întâlneşte şi la eozinofile.

2. *Hipersegmentarea constituţională (familiară) a nucleelor granulocitelor neutrofile. Neutrofilele conţin în nucleu mai mult de 5 lobi.*

– **Anomalii citoplasmatice** ale granulocitelor sunt următoarele:

1. *Anomalia Adler* este o anomalie constituţională foarte rară a granulaţiilor; toate tipurile de granulocite, de la promielocit la granulocitul adult, conţin numeroase granulaţii azurofile mari în citoplasmă care ascund nucleul celulelor.

2. *Anomalia May-Hegelin* se caracterizează prin prezenţa în citoplasmă a unor granule de culoare albastră-deschisă, în formă de seceră sau fus, după dimensiuni sunt mai mici decât corpii Dohle (dar asemănătoare). Se transmit pe cale autosomo-dominantă.

3. *Anomalia Chediak.* Dereglare ereditară a formării granulocitelor, se transmite pe cale autosomo-recesivă. Se caracterizează prin afectarea pronunţată a funcţiei granulocitelor (fagocitoză, imunitatea celulară). În citoplasma leucocitelor sunt incluzii corpusculare mari (gigante) de culoare verde-surie cu reacţie pozitivă la peroxidază. Este asociată de neutropenie ($1–3 \times 10^9$/litru).

– **Anomalii cantitative.** Dintre acestea fac parte neutropenia constituțională și eozinofilia familială.

3.3. Studiul seriei limfocitare

Toate celulele seriei limfocitare (T și B) își au originea din celula stem limfoidă din măduva osoasă. Conținutul tuturor celulelor limfoide în măduva osoasă constituie aproximativ 10% din numărul cariocitelor. În procesul limfocitopoiezei în măduva osoasă din celulele stem limfoide generează două tipuri de celule progenitoare ale limfocitelor.

Limfocitopoieza. Celulele progenitoare ale limfocitelor T migrează în cursul procesului de limfopoieză din măduva osoasă în timus, unde are loc măturarea lor (limfocite-T-timusdependente). O altă parte de celule progenitoare – B, rămân în măduva osoasă, unde se maturizează sub influența mediului din acest țesut în limfocite B (Burs-dependente. Bursa – Fabriția este un organ special la păsări, unde are loc maturizarea acestor celule). Apoi celulele mature T și B părăsesc timusul și măduva osoasă, trec în torentul circulator și de aici în organele limfoide periferice (ganglionii limfatici, foliculii limfatici, splina etc.), unde se depun în zonele T și B separat. În sângele periferic circulă doar 0,1% din numărul total de limfocite ale organismului (aproximativ 1700 g).

Limfoblastul este o celulă cu talie de 10–22 µm, cu nucleul dispus central sau excentric de formă rotundă sau ovală, cu cromatina ca o rețea fină; raportul nucleo-citoplasmatic 7:1; 4:1. Nucleul conține cel mai adesea 1–2 nucleole, bine delimitate colorate palid. Nucleul are o culoare roșie-violetă. Citoplasma limfoblastului este de culoare albastră-deschisă, uneori mai inchisă, lipsită de granulații.

Prolimfocitul constituie treapta ulterioară de maturație în seria limfocitară. Celula are dimensiuni de 9–12 µm. Nucleul este de structură cromatiniană mai densă decât a limfoblastului, nucleolul este mai puțin vizibil sau apare numai ca o urmă.

Limfocitele au dimensiuni şi caracteristici morfologice variate în funcţie de gradul lor de maturitate (7–15 µm).

Limfocitul mare macrocitoplasmatic măsoară 12–16 µm. Nucleul mare este rotund, ovular, uneori riniform. Este mai mic comparativ cu nucleul limfoblastului, mult mai închis la culoare şi prezintă grămezi de cromatină de aspect compact. Nu prezintă nucleole.

Citoplasma întinsă amplă este bazofilă, albastră ca cerul, conţine adesea câteva granulaţii azurofile mici sau mari.

Limfocitul mic este o celulă de talie mică, cât un eritrocit sau puţin mai mare.

Nucleul este uşor ovular, uneori puţin curbat, situat excentric, violet-închis spre albastru-închis, ocupă $^{9}/_{10}$, aproape toată celula. Citoplasma, intens bazofilă, este foarte redusă, îngustă, uneori conţine puţine granule azurofile.

În mod normal există aproximativ 10% de limfocite mari şi 90% mici. La copil numărul limfocitelor mari este mai ridicat.

3.3.1 Funcţia limfocitelor

Funcţia principală a limfocitelor constă în implicarea lor în răspunsurile imune, fiind denumite din acest motiv celule ale sistemului imun. Principalul fenomen din punct de vedere funcţional al limfocitelor T şi B îl constituie existenţa pe suprafaţa lor a receptorilor (unor molecule specifice), astfel fiecare celulă fiind capabilă să recunoască un antigen specific. Din această cauză identificarea diferitor tipuri de limfocite nu se bazează pe aspectul lor morfologic, ci pe unele criterii imunologice: 1. reactivitatea faţă de anumiţi anticorpi monoclonali (CD); 2. prezenţa imunoglobilinelor de suprafaţă; 3. reangajarea genilor pentru receptorul celulei T (TCR).

S-a constatat că limfocitele circulante sunt funcţional neactive, morfologic acestea sunt prezentate de limfocitele mici. Contactul cu un antigen specific declanşează activarea limfocitelor,

manifestarea funcţiei lor specifice, proliferarea şi transformarea în celulele efectoare.

Grupul celulelor T efectoare include:

1. celule helper (CD_{4+}), care induc activarea limfocitelor B şi maturarea altor tipuri de limfocite T;

2. celule supresoare (CD_{8+}), care deprimă activitatea limfocitelor B şi exercită un efect citotoxic asupra celulelor străine şi celor infectate cu virus;

3. celule citotoxice (K, Killer) etc.

Prin urmare, celule T exercită următoarele funcţii principale:

1. asigură imunitatea celulară împotriva virusurilor; fungilor şi micobacteriilor, respingerea tumorilor şi a ţesuturilor transplantate;

2. cooperează cu celulele B în producerea anticorpilor, deprimă activitatea celuleor B.

Funcţia celulelor B. – Celulele B neactive exprimă pe suprafaţa lor moleculele de IgM, IgD, IgG, IgA – imunoglobuline de suprafaţă. În urma contactului cu antigenul specific limfocitele B se diferenţiază în plasmocite, care produc anticorpi (Ig) şi asigură răspunsul imun umoral.

Valorile procentuale ale tipurilor de limfocite din sângele circulant sunt: T – 60–85%; B – 10–30%; NK (Natural Killer) – 2–10%.

Se afirmă că majoritatea limfocitelor circulante mor. O parte din ele au durata vieţii mult mai mare în raport cu granulocitele.

3.3.1.1 Anomalii ale limfocitelor

Modificările numărului de limfocite.

Limfocitoza este caracterizată prin creşterea numărului absolut de limfocite în sânge la maturi peste 4×10^9/litru, la copii peste 7×10^9/litru, iar în formula leucocitară peste 40–45% la adulţi şi peste 70% la copii.

Limfocitoza constituie răspunsul obişnuit al organismului la diferite infecţii virale: mononucleoza infecţioasă, infecţia cu cito-

megalovirus, rubeola, rujeola, varicela, hepatita acută infecţioasă, limfocitoza infecţioasă.

În mononucleoza infecţioasă numărul crescut de limfocite este asociat cu prezenţa unor limfocite mari atipice – mononucleare.

Unele infecţii bacteriene sunt asociate de limfocitoză, în special la copii (1–7 ani). La fel limfocitoza prezintă un indice de laborator specific pentru afecţiunile tumorale: leucemie limfatică cronică, limfoame maligne, gamopatiile monoclonale.

Limfocitopenia – scăderea numărului de limfocite sub 0,5 x 10^9/l, la copii sub 3 x 10^9/l. Este caracteristică pentru sindromul de imunodeficienţă congenitală, postiradiere, tratamentul cu corticosteroizi şi medicamente citotoxice, uremie, sarcoidoză.

3.4 Seria monocitară

Monocitele sunt celule sanguine care în prezent sunt grupate într-un sistem denumit sistem al fagocitelor mononucleare. În acest sistem sunt incluse monocitele din măduva osoasă, monocitele circulante din sângele periferic şi macrofagele din ţesuturi. Monocitele se formează în măduva osoasă dintr-o celulă precursoare mieloidă comună cu seria granulocitară, trecând fazele de monoblast şi promonocit timp de 5 zile, după ce trece în sânge. Din promonocitul măduvei oaselor se dezvoltă două linii de celule: componentul celular mononuclear fagocitar şi celulele dendritice.

Prima linie de celule este prezentată de monocite provenite din promonocite şi care circulă puţin timp în sângele periferic, ulterior se întorc în ţesuturile organismului, fixându-se în diferite organe sub denumirea de histiocit (fagocit macrofag). Structura lor se acumulează la organul unde s-au fixat, având diferite denumiri (celulele Cupfer în ficat, macrofag alveolar, peritonial, pleural, macrofagi în măduva oaselor, splină, ganglionii limfatici, osteoclaşti). Celulele microgliale din creier la fel se consideră derivate macrofagale, dar acest fapt încă nu este confirmat deplin.

Histocitele (macrofagiale) fixate în ţesuturi prezintă un stadiu de maturizare ulterioară a monocitelor. Ele sunt mai mari, cu o ci-

toplasmă eozinofilică abudentă, au un număr mai mare de lizosomi. Macrofagele secretă multe substanțe biologic active şi au importanță imunoreglatorie, fagocitară, de distrugere a microbilor.

A doua linie de celule include celulele dendritice. Aceste celule, asemenea celor macrofagale, provin din promonocitele măduvei oaselor şi la fel ca şi celulele macrofagiale, se distribuie în diferite organe. În conformitate cu localizarea lor deosebim trei categorii de celule dendritice:

1. Celule Langherhans situate preponderent în dermă.

2. Celule interdighitante, care se află în zona paracorticală a ganglionilor limfatici.

3. Celule dendritice foliculare, care înconjoară foliculii ganglionilor limfatici.

Aceste celule morfologic nu diferă una de alta. La microscopia obişnuită ele, fiind colorate cu hematoxilin-eozină, au citoplasmă de culoare roz şi nucleu „încrețit" cu cromatină granulară. Microscopia electronică a demonstrat că celulele dendritice se caracterizează printr-o membrană iregulară şi un număr variabil de lizosomi, lipide şi glicogen. Ele n-au microvili ca macrofagele. Celulele dendritice la microscopia electronică se mai deosebesc de histiocitele din prima linie prin depistarea în citoplasma lor a granulelor Birbeck, numite de asemenea şi granulele Langherhans. Aceste granule au structuri caracteristice cu lungimea de 180–360 nm cu o linie centrală striată şi cu o lărgire veziculară a membranei la unul din capete, ce-i redă formă de rachetă de tenis. Celulele dendritice nu fagocitează, sunt antigendependente şi acționează în reacții imune.

Funcția monocitelor şi macrofagelor:

1. fagocitează şi distrug bacteriile;

2. captează din sânge detritusurile celulare şi celulele sanguine îmbătrânite;

3. interacționează cu limfocitele în procesul imun – prezintă antigenul prelucrat limfocitului prin intermediul sistemului de histocompatibilitate de clasa II; de asemenea, secretă interleukina 1 care activează limfocitul T;

4. au efecte citotoxice la nivelul celulelor tumorale;

5. exprimă la suprafaţa membranei receptorul Fc pentru porţiunea Fc a imunoglobulinei şi poate activa componente din sistemul complementului;

6. secretă o serie de substanţe active: factorul stimulator al coloniilor de neutrofile şi monocite(GM-CSF); factorul inhibitor al migrării macrofagului (MIF); interleukina 1; factorul de necroză tumorală (TNF);

7. activizează tromboplastina tisulară.

3.4.1 Morfologia celulelor monocitopoiezei

Monoblastul este o celulă ovulară foarte mare, cu diametre de 14–20 μm. Nucleul ovalar sau rotund de culoare albăstruie-violetă, posedă 1–5 nucleoli. Raportul nucleu:citoplasmă = 3:1. Citoplasma redusă, de culoare surie, fumurie, fără granulaţii.

Promonocitul, diametrul 14–20 μm. Nucleul mare ovalar sau sub formă de bob de culoare violetă-deschisă. Conţine 1–2 nucleole. Cromatina este laxă, reticulară, bazofilă, de culoare albăstruie-surie (fumurie), conţine granulaţii foarte fine azurofile, albăstrui, uneori cu vacuole.

Monocitul – celulă mare – 14–21 μm. Este cea mai mare celulă din sângele periferic. Nucleul este mare, raportul cu citoplasma 1:1 cu structura fină de culoare violetă-deschisă (purpurie-închisă). Este lipsit de nucleoli.

Forma nucleului poate fi extrem de variată: ovală sau reniformă (în formă de potcoavă), uneori adânc incizată sau polilobată.

Citoplasma are o culoare albastră-cenuşie, palidă, tulbure, clasic comparată cu cerul înnourat de furtună; conţine fine granulaţii azurofile, presărate ca o pulbere. Nucleul monocitului este caracteristic: în general mare, cu structura cea mai fină dintre toate elementele normale din sângele periferic, nucleul este sărac în cromatină, palid, format dintr-o reţea laxă caracteristică. Nu are nucleoli, nici mase de cromatină condensată.

3.4.2 Anomaliile seriei monocitare

Se caracterizează prin creşterea numărului de monocite supra 1,0 x 10^9/litru.

Monocitoza. Deoarece monocitele au o mare importanţă în patogenia inflamaţiei şi reacţiilor imune numărul lor creşte în infecţiile cronice: tuberculoză, sifilis, bruceloză, endocardita septică subacută, lupus eritematos, artritele reumatoide etc. Monocitozele pot apărea în afecţiunile tumorale (leucozele monocitare).

Monocitopenia – scăderea numărului de monocite sub 0,09 x 10^9/litru, apare la inhibiţia (hipoplazia) hematopoiezei.

3.5 Seria trombocitară

Megacariocitopoieza şi trombocitopoieza. În cursul formării trombocitelor se realizează un model particular de mitoză a celulelor stem – endomitoză, manifestat printr-o replicare a ADN fără diviziunea nucleului şi a celulei. Drept urmare, se formează celule gigante uninucleare cu 8–64 cariotipuri, numite megacarioblaşti.

În cursul etapelor de proliferare şi diferenţiere ale seriei megacariocitare sunt recunoscute următoarele tipuri celulare:

1. Megacarioblastul – celulă mare (20–50 µm), cu nucleul rotund, ovular sub formă de bob, intens colorat (de la roşu-purpuriu până la violet) conţine câteva nucleole. Raportul nucleu : citoplasmă – 5:1, 3:1. Citoplasma redusă şi bazofilie marcantă (de la albastră-deschisă până la albastră-închisă).

2. Promegacariocitul – celulă mare (20–80 µm), cu nucleul de formă neregulată, discret, lobulat sau polilobat, conţine câteva nucleole. Raportul nucleu : citoplasmă – 1:1. Citoplasma e de culoare roz-albastră. Conţine câteva granule albastre.

3. Megacariocitul – talia este de 40–100 µm, nucleul polilobat, de culoare purpuriu-inchisă, nucleolele lipsesc. Citoplasma bogată, ambudentă, de culoare roz, conţine multiple granulaţii, ce corespund viitoarelor trombocite. Printr-un proces de descuamare

din megacariocite se formează trombocitele, care trec în circulație. Din fiecare megacariocit se formează 4.000–6.000 de trombocite.

Trombocitul. Rotunde sau ovulare, trombocitele au dimensiuni care variază între 2 și 5 μm, în structura lor se disting două părți:

– partea periferică, omogenă, aproape incoloră sau foarte slab bazofilă, denumită hialomer;

– partea centrală, denumită cromomer (granulomer), conține granulații dens dispuse, care provin din îngrămădirea granulațiilor citoplasmatice megacariocitare. Ele sunt de culoare roșie-violacee. Granulațiile cromomerului sunt de obicei grupate în centrul celulei; uneori însă apar răspândite pe toată suprafața celulei sau dispuse în coroană în jurul unei vacuole, iar alteori foarte strânse în centrul celulei. Aceste granulații ale cromomerului sunt pur azurofile: reacția Feulgen, verdele de metil nu le colorează, ceea ce dovedește absența de cromatină.

3.5.1 Fiziologia celulelor seriei trombocitare

Maturația totală a unui megacariocit durează aproximativ 4 zile. Durata de viață a trombocitului este de aproximativ 4–8 zile. Printre caracteristicile trombocitelor, aglutinabilitatea lor spontană și adezivitatea prezintă interes practic și trebuie cercetate în afecțiunile legate de patologia trombocitelor.

3.6 Valorile normale (intervale de referință) ale mielogramei

Tabelul 3.1

Valorile normale (intervale de referință) ale mielogramei la adulți (Соколов В.В., Грибова И.А., 1972)

Indicii mielogramei	Valorile medii	Intervalele de referință
Blaste	0,6	0,1–1,1
Mieloblaste	1,0	0,2–1,7
Promielocite	2,5	1,0–4,1

Continuare

Mielocite	9,6	7,0–12,2
Metamielocite	11,5	8,0–15,0
Neutrofile nesegmentate	18,2	12,8–23,7
Neutrofile nesegmentate	18,6	13,1–24,1
Elemente neutrofile, total	60,8	52,7–68,9
Eozinofile (toate generațiile)	3,2	0,5 5,8
Bazofile	0,2	0,1 0,5
Eritroblaste (sinonim proeritroblast)	0,6	0,2 -1,1
Pronormocite	0,6	0,1 -1,2
Normocite bazofile	3,0	1,4–4,6
Normocite policromatofile	12,9	8,9 16,9
Normocite oxifile	3,2	0,8–5,6
Eritrocariocite (în total)	20,5	14,5–26,5
Limfocite	9,6	4,3–13,7
Plasmocite	0,9	0,1–1,8
Monocite	1,9	0,7–3,1
Reticulocite	0,9	0,1 1,6

Tabelul 3.2

Mielograma copiilor practic sănătoși în primii 3 ani de viață, %
(Малаховский Ю.Е. и др., 1963)

Celule	6 ore – 5 zile	14–20 zile	3–7 luni	1 an	1,5 ani	2 ani	3 ani
1. Reticulocite	0.58-1.88	0.31-1.69	0.14-1.38	0.45-2.03	1.34–2.12	0.44–1.84	0.05–1.43
2. Blaste nediferențiate	0.7–2.14	1.32–2.32	0.59–3.51	0.854.03	1.67–3.53	1.59–3.39	1.31–2.69
3. Mieloblaste	0.82–1.84	0.22–2.08	0.71–2.75	1.47–2.65	1.15–3.63	1.62–2.98	0.75 3.25
4. Promielocite neutrofile	4.24-6.16	4.84 6.96	4.2-7.5	4.47–6.53	3.87 6.79	2.334.05	2.84-5.78
5. Mielocite neutrofile	8.06–12.34	10.14–14.6	6.94–11.46	9.13–14.47	6.41-10.23	7.21–11.33	8.46–11.86

Continuare

6. Metamielocite neutrofile	6.82–8.78	6.75 12.25	4.61-7.73	6.8–10.2	5.27-8.59	5.45-8.47	7.11–8.97
7. Neutrofile nesegmentate	19.96-25.24	16.35-23.05	13.12-19.8	17.64–20.16	16.0-18.8	14.76-22.44	13.98-25.42
8. Neutrofile segmentate	18.0 23.6	10.75-16.85	6.06–9.88	8.37–16.23	11.05 21.75	9.75 20.45	13.27-22.53
9. Mielocite eozinofile	0.22-0.58	0.12 1.08	0.05–0.75	0.09–0.73	0.33 1.39	0.68-1.12	0.09–0.85
10. Metamielocite eozinofile	0.33-0.81	0.61-1.79	0.08-0.78	0.36-0.96	0.4-1.6	0.67-1.35	0.66-1.54
11. Eozinofile nesegmentate	0.18-0.58	0.02-0.52	0.04-0.8	0.08-0.56	0.05 0.55	0.06-0.66	0.24-0.74
12. Eozinofile segmentate	1.97-3.23	0.76-2.14	1.0-2.14	1.22-2.26	0.9-3.7	1.84-3.24	1.77-3.31
13. Bazofile segmentate	0.02-0.28	0-0.27	0-0.22	0-0.09	0-0.17	0-0.02	0-0.13
14. Eritroblaste	0.95-1.79	1.08-2.06	1.7-3.08	0.91-2.39	1.08-2.1	0.99-1.93	0.75-1.97
15. Normoblaste:							
– bazofile	2.5-5.1	2.54-3.36	2.074.62	1.73-3.47	1.93-3.32	1.33-2.41	1.44-3.44
– policromatofile	6.85-10.55	4.87-7.77	8.75-15.03	7.69-10.65	7.32-11.48	8.18-10.78	7.49-11.21
– oxifile	5.89-9.97	5.44-7.26	3.23-8.95	4.93-8.17	5.25-9.09	5.92-8.76	4.5-10.18
6. Limfocite	1.98-3.78	9.77-16.77	16.31-25.25	0.21-16.39	10.2-14.8	12.15-17.85	6.68-13.52
17. Limfoblaste	0-0.97	0.17-0.97	0.05-2.11	0-1.71	0-1.69	0.05-1.21	0.04-1.08
18. Plasmocite	0.1-0.12	0	0-0.28	0-0.22	0-0.3	0-0.33	0-0.33
19. Monocite	0-0.13	0	0-0.26	0-0.12	0-0.23	0.03-0.25	0-0.17
20. Raportul leuco-eritroblaste	3.024.42	4.18-5.82	2.684.32	3.384.5	3.294.92	3.294.51	3.2-5.0
21. Megacariocite ($x10^9$ / l)	51-108	71-107	64-216	77 161	57-141	81-99	53-113
22. Mielocariocite ($x10^9$/l)	146.5-222.5	120-234	196-333	245.5-316.5	154-256	193-313	171-297

Tabelul 3.3

Mielograma copiilor sănătoşi cu vârsta cuprinsă între 3–14 ani, % (Написова Д.Г., 1974)

Celule	Vârsta, ani		
	3–6	7–14	3–14
Celule nediferenţiate	0–2,0	0–2,2	0–2,2
Mieloblaste	0,8–5,0	0,8–4,0	0,8–5,0
Promielocite	0,8–5,8	0,8–5,8	0,8–5,8
Mielocite	3,4–12,0	2,6–11,8	2,6–12,0
Metamielocite	4,6–12,8	4,6–17,2	4,6–17,2
Neutrofile nesegmentate	11,0–33,0	6,8–33,0	6,8–33,0
Neutrofile segmentate	6,4–17,6	5,2–18,2	5,2–18,2
În total celule neutrofile	35,8–67,8	40,6–66,4	35,8–66,4
Mielocite eozinofile	0,2–2,8	0,2–3,0	0,2–3,0
Metamielocite eozinofile	0,2–3,0	0,2–2,6	0,2–3,0
Eozinofile nesegmentate	0,4–4,0	0–3,6	0–4,0
Eozinofile segmentate	0–3,2	0,2–2,6	0–3,2
În total celule eozinofile	1,61–12,6	0,5–8,13	0,5–12,6
Mielocite bazofile	0–0,2	0–0,2	0–0,2
Bazofile nesegmentate	0–1,2	0–1,6	0–1,6
În total celule bazofile	0–1,2	0–1,6	0–1,6
Limfocite (limfoblaste)	11,8–33,4	12,6–26,4	11,8–33,4
Monocite	0–7,8	0–6,8	0–7,8
Reticulocite	0–2,0	0–3,6	0–3,6
Plasmocite	0–1,2	0–1,6	0–1,6
Megacariocite (megacario-blaste)	0–1,0	0–2,4	0–2,4
Eritroblaste (pronormocite)	0,2–1,2	0–1,2	0–1,9
Normocite: -bazofile	0,4–2,8	0–2,0	0–2,0
-policromatofile	6,6–23,0	0,2–4,8	0,2–4,8
-oxifile	0,2–3,0	7,6–22,0	6,4–23,0
În total celule ale seriei eritrocitare eritrocitare	9,8–26,0	9,6–24,4	9,6–26,0

Continuare

Numărul mielocariocitelor, x 10^9/l	75–477	59–530	59–530
Numărul megacariocitelor, x10^6/l	43–235	93–225	43–235
Mitoze seria eritroidă la 1000 de celule	0–3,0	0–5,0	0–5,0
Mitoze seria leucoblastică	0–3,0	0–3,0	0–3,0
Reticulocite la 1000 de eritrocite	6–31	10–39	6–39,0

Tabelul 3.4

Măduva hematogenă (copii)

CD marcherul, (limitele min-max), %	**Vârsta (ani)**		
	1–5	**6–10**	**11–15**
CD2	16–51	37–72	43–76
CD4	6–33	15–39	25–48
CD8	4–22	14–33	11–30
CD10	13–41	7–28	7–23
CD19	20–68	22–44	13–32
CD20	19–40	11–31	4–17
CD21	0–14	1–14	2–14

Tabelul 3.5

Măduva hematogenă (adulți)

CD marcherul	**CD3**	**CD4**	**CD5**	**CD22**	**HLA-DR**	**CD34**	**CD20**	
Limitele (min-max),%	21–51	14–30	11–28	17–29	10–28	0–5	3–10	
CD marcher	**CD16**	**CD25**	**CD7**	**CD19**	**CD10**	**CD13**	**CD14**	**CD33**
Limitele (min-max),%	6–34	5–28	17–31	7–20	0,5–15	3–6	2–8	3–11

Tabelul 3.6

Sângele periferic (adulți)

CD markerii limfocitelor	Valorile de referință (minime- maxime)	
	Valori relative, %	Valori absolute, 10^9/l
CD3	60–80	1,0–2,4
CD4	33–50	0,6–1,7
CD8	16–39	0,3–1,0
CD4/CD8	1,5–2,0	
CD19	5–22	0,04–0,4
CD20	6–23	0,05–0,6
CD16	3–20	0,03–0,5
CD56	5–25	0,045–0,7
CD25	7–18	0,06–0,4
HLA-DR	9–28	0,1–0,75

Tabelul 3.7

Sângele periferic (copii de vârstă timpurie – până la 1,5 ani)

Vârsta (luni)	Limitele (minime- maxime), %				
	CD2	CD3	CD4	CD8	CD19
0–6	55–88	55–82	50–57	8–31	11–45
6–12	55–88	55–82	49–55	8–31	11–45
12–18	55–88	55–82	46–51	8–31	11–45
18–24	55–88	55–82	42–48	8–31	11–45
24–30	55–88	55–82	38–46	8–31	11–45
30–36	55–88	55–82	33–44	8–31	11–45

Tabelul 3.8

Sângele periferic (copii)

CD markerii limfocitelor	Vârsta (ani)			
	1–6 ani		7–17 ani	
	%	10^9 /l	%	10^9 /l
CD3	62–69	1,82–3,01	63–69	1,75–3,09

Continuare

CD4	30–40	1,02–1,84	39–47	0,83–2,11
CD8	25–32	0,81–1,52	23–29	0,49–1,3
CD4/CD8	1,0–1,6		1,4–2,0	
CD20	21–28	0,74–1,33	10–14	0,21–0,62
CD56	8–15	0,21–0,64	6–17	0,12–0,76
HLA DR	8–12	0,34–0,56	10–16	0,21–0,71

BIBLIOGRAFIE

1. Corcimaru I., Hematologie, 2007, Chşinău, Centrul Editorial-Poligrafic „Medicina", 388 p.

2. Corcimaru I., Anemiile, 2003, 160 p.

3. Petrov Ljubomir. Manual de hematologie clinică, Editura Cărţii de ştiinţă, Cluj-Napoca, 1992, 182 p.

4. Popescu Delia Mut. Hematologie clinică, ediţia a II-a, editura medicală, Bucureşti, 2002, coli tipar 21,25.

5. Долгов В.В., Луговская С.А., Морозова В.Т. Лабораторная диагностика анемий, изд. «Юнимед пресс», Москва, 2001, 82 с.

6. Карпищенко А.И. Медицинские лабораторные технологии, том. 1, 2005, 326 с.

7. Луговская С.А., Морозова В.Т. Лабораторная диагностика лейкозов, 2000, 78 с.

8. Луговская С.А., Морозова В.Т. Лабораторная гематология, 2002, 112 с.

9. Шиффман Фред Дж. Патфизиология крови. Москва, 2001, 431 с.

10. Шона К., Андерсон К., Поулсен Б. Атлас гематологии, издательство «Логосфера», Москва, 2007, 577 с.